RÉGIME LOCAL

THÈSE

présentée pour le Doctorat de l'Université de Strasbourg

(Mention Médecine)

Année 1923 N° 4

Maurice WOLF

Né à Colmar (Haut-Rhin) le 11 Août 1895

L'ACTION BIOLOGIQUE DE L'ION CALCIUM

SES APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES EN CLINIQUE

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1923

RÉGIME LOCAL

THÈSE

présentée pour le Doctorat de l'Université de Strasbourg

(Mention Médecine)

Année 1923 N° 4

Maurice WOLF

Né à Colmar (Haut-Rhin) le 11 Août 1895

L'ACTION BIOLOGIQUE DE L'ION CALCIUM

SES APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES EN CLINIQUE

PARIS

LIBRAIRIE Louis ARNETTE

2, rue Casimir-Delavigne, 2

1923

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM. WEISS O. ✲ ✪ I.
Assesseur	CHAVIGNY O. ✲ ✪ I

Professeurs

Embryologie	MM. ANCEL ✲ ✪ I.
Anatomie	FORSTER ✪ A.
Histologie	BOUIN ✲ ✪ I.
Physiologie	N...
Physique biologique	WEISS O. ✲ ✪ I.
Chimie biologique	NICLOUX ✪ I.
Anatomie pathologique	MASSON ✪ A.
Pharmacologie et Médecine expérimentale	AMBARD ✪ A.
Hygiène et Bactériologie	BORREL O. ✲ ✪ I.
Médecine légale	CHAVIGNY O ✲ ✪ I.
Clinique médicale	BARD O. ✲ ✪ I. BLUM Léon ✲ ✪ A.
Clinique chirurgicale	SENCERT O. ✲ ✪ I. STOLZ ✲ ✪ A.
Clinique ophtalmologique	DUVERGER ✪ A.
Clinique dermatologique	PAUTRIER ✲ ✪ A.
Clinique psychiatrique	PFERSDORFF ✪ A.
Clinique neurologique	BARRÉ ✲ ✪ A.
Clinique oto-rhino-laryngologique	N...
Clinique gynécologique et accouchements	SCHIKELÉ ✪ A.

Chargés de cours :

MM. ARON Max ✪ A.	MM. KELLER ✪ A.
BELLOCQ ✪ A.	LICKTEIG ✪ A.
BLUM (Paul) ✲ ✪ I.	WEILL ✪ A.
CANUYT.	REEB ✪ A.
GELMA ✪ A.	ROHMER ✪ A.
GÉRY ✪ A.	SCHAEFFER ✪ A
BOEZ.	SCHWARTZ ✪ A
GUNSETT ✪ A.	VAUCHER ✪ A.
HANNS ✲ ✪ A.	FONTÈS
HUGEL ✪ A.	HUMBERT ✪ A.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

AUX MIENS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LÉON BLUM

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CHAUFFARD

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. MASSON

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE STRASBOURG

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE PARIS

A MES AMIS

AVANT-PROPOS

Le calcium est apparu dans ces dernières années comme un remède efficace dans un certain nombre d'affections d'ordre nerveux, circulatoire, intestinal, rénal, etc., dont le mécanisme pathogénique et l'étiologie n'ont absolument rien de commun. Il pouvait donc sembler que le calcium était capable d'agir très différemment suivant les cas et que, à cette action différente, répondaient des mécanismes différents. C'est là un phénomène fréquent dans la science médicale que de voir s'accumuler des faits d'ordre disparate à première vue, que la comparaison et l'analyse permettent ensuite de ramener à des mécanismes premiers très voisins sinon identiques, et de réunir par une synthèse d'un point de vue plus général, parfois même complètement nouveau ; c'est ce qui s'est passé pour les états anaphylactiques et anaphylactoïdes, pour les maladies à virus histiotrope défini, pour les maladies carentielles et pour de nombreuses autres.

Il nous a paru intéressant de tenter un essai semblable pour l'action physiologique et pharmacodynamique

du calcium avec l'étude duquel certaines recherches dans le cancer, dans les maladies infectieuses et les maladies du métabolisme nous avaient déjà un tant soit peu familiarisé. Certaines de ces recherches ont déjà été publiées mais la plupart sont encore inédites. Si nous les avons présentées d'une façon un peu cursive et sans nous y appesantir particulièrement, c'est que nous avons voulu surtout faire dans la présente thèse une œuvre de mise au point de recherches nombreuses, dans lesquelles nos résultats n'interviennent que pour une très faible part. Qu'on ne veuille donc y voir qu'une modeste contribution à un vaste sujet dont l'intérêt ira, croyons-nous, sans cesse croissant, puisqu'il montre l'application pratique que permettent en clinique certaines acquisitions particulièrement importantes de la physiologie générale.

Après avoir rapidement passé en revue nos notions actuelles sur les électrolytes et les milieux colloïdaux et l'influence des uns sur les autres, nous étudierons cette question du point spécial du calcium dans son action biologique générale, cytologique et tissulaire, pour montrer finalement son action pharmacodynamique sur l'organisme, et en dégager le mécanisme d'action dans une courte synthèse finale.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE PHYSICOCHIMIQUE ET HISTOLOGIQUE DES ÉLÉMENTS DE L'ORGANISME

Ier Chapitre. — ÉLÉMENTS CONSTITUANTS

1. Les électrolytes

Dans le cours de ses recherches sur la production de l'électricité, Faraday put constater que le passage du courant à travers une solution saline y provoquait des perturbations profondes en dissociant les molécules chimiques dans des fragments à propriétés nouvelles. Cette dissociation ne se faisait pas suivant la composition atomique élémentaire, mais au contraire suivant des groupements atomiques ou moléculaires toujours les mêmes, qui subissaient l'influence physique toujours de la même façon, et suivaient toujours dans le même sens les fluctuations du courant. Suivant la conception qu'il s'était faite des mouvements électriques descendants de l'anode à la cathode, l'auteur anglais dénomma les petites particules migratrices « ions » en les départageant en anions et cations suivant l'électri-

cité dont ils se chargeaient et la direction dans laquelle ils s'engageaient. C'est ainsi que fut créée la notion de la dissociation électrolytique, dont le fait domine probablement la grande majorité des phénomènes physiques et chimiques.

Mais par la suite la découverte faite par Faraday en 1839 dans un domaine purement physique devait trouver une application particulièrement étendue et importante en biologie. Confinée encore dans le domaine de la physique pure elle fut reprise, élargie et instaurée solidement par Stoney, Helmholtz, Nernst, Arrhenius et vant Hoff. Ces recherches prirent leur point de départ de deux observations dont l'une fut la série de recherches de François Raoult sur le point de congélation des solutions physiologiques et biologiques salines ; l'autre les travaux classiques de de Vries, sur la plasmolyse. Ainsi se montrait dès l'abord l'importance en physiologie générale des solutions salines et l'intérêt des recherches destinées à élucider leurs caractères physiques et chimiques.

La grande différence entre les travaux initiaux de Faraday et ceux de ses successeurs dans la voie nouvelle fut que le courant électrique en tant que générateur de la *dissociation électrolytique* fut de plus en plus négligé ; on voit peu à peu se dégager la notion de la dissociation spontanée des électrolytes dans les solutions faibles, l'ion remplace la molécule, le groupement électronique remplace l'atome. Des jalons ne seront pas inutiles pour bien montrer la genèse de cette révolution physicochimique.

Les chimistes ayant observé que les solutions dissociées étaient pourvues de qualités toutes différentes des solutions ordinaires opposèrent d'abord les premières aux secondes. Mais très vite on put retrouver dans presque toutes les solutions faibles certaines ou toutes les caractéristiques des solutions dissociées, et déjà en 1857, Clausius montra qu'il fallait admettre un certain degré de dissociation électrolytique dans toutes les solutions, qu'elles aient subi le passage du courant électrique ou non. Ce fait d'une dissociation électrolytique plus ou moins partielle permettait en même temps d'expliquer certaines anomalies observées dans les expériences sur la pression osmotique. On put montrer que le degré de dissociation électrolytique d'une solution donnée correspondait à son coefficient isotonique, c'est-à-dire à la différence entre la pression osmotique théoriquement prévue suivant la concentration choisie et pratiquement trouvée par l'expérience. Ainsi la notion physicochimique de la dissociation ionique permettait une première fois de corriger les « erreurs » inexplicables d'une expérience physiologique, telle que la plasmolyse.

Ce n'est cependant que 30 ans plus tard que Arrhénius eut l'idée géniale d'étendre la notion de la dissociation électrolytique aux solutions d'électrolytes à tous les taux de concentration. « Il n'existe plus, dit-il, d'exception à la loi de vant Hoff, qui avait généralisé aux solutions la loi d'Avogadro sur la tension des gaz pour un volume et une température donnés, elle s'étend à toutes les solutions d'électrolytes dans l'eau ». Mais, ajoute-t-il, toutes les solutions d'électrolytes dans l'eau

sont constituées en partie par des molécules actives (sous le rapport électrique et chimique) et en partie par des molécules inactives. Ces dernières cependant peuvent être transformées en molécules actives par la dilution à tel point que des solutions diluées à l'infini ne contiennent plus que des molécules actives ». Toutes les solutions physiologiques étant des solutions très diluées on conçoit la proportion de « molécules actives » c'est-à-dire d'ions qui doit s'y trouver. Le degré de dissociation de chaque substance peut d'ailleurs être facilement calculé par des tables que l'on doit à Nernst ; Kohlrausch d'autre part a pu montrer quels étaient les déplacements ioniques dans les milieux salins complexes comme ceux de l'organisme.

De là il ne restait qu'une étape pour arriver à l'application des phénomènes de dissociation électrolytique aux états solides, et c'est Nernst qui la franchit. En immergeant des fragments de métaux dans des solutions de leurs propres sels il put démontrer que le métal solide tendait à se dissoudre dans la solution liquide en y dégageant des ions. Ceux-ci sont cependant repoussés par des ions similaires présents dans la solution et la tension de solution ou le potentiel du métal dépendra du rapport entre la pression osmotique des ions libres et la pression électrolytique des ions formant la masse solide. En même temps la présence d'un fragment métallique dans une solution d'un sel de ce métal entraînera des déplacements ioniques qui, en raison de l'attraction des ions de signe contraire, amènera à la surface du bloc solide à électricité positive une couche de condensation

liquide d'ions d'électricité négative. Cette « polarisation » intervient probablement dans la plupart des phénomènes d'échanges entre 2 substances séparées par une membrane, c'est-à-dire dans tous les cas où deux milieux de composition différente se trouvent affrontés. Comme les échanges vitaux se font toujours entre deux milieux différents, l'importance que doit y jouer la polarisation est de toute évidence.

2. Les colloïdes

Mais les milieux vivants sur lesquels les électrolytes ouvrent leur action ne correspondent ni aux liquides ni aux solides ; ils se trouvent dans un état intermédiaire, instable, dynamique, qui les oppose à l'état statique des substances solides et c'est à cause de leur ressemblance avec la glue et la gélatine que Thomas Graham en 1861 a proposé dans son mémoire célèbre de les nommer « colloïdes » et d'opposer l'état « colloïdal » à l'état « cristalloïde », solide ou liquide sous lequel se présentent les électrolytes. Si c'est cependant à Graham que l'on doit la notion de cet état si spécial, il mérite d'être signalé que Faraday dont les travaux sont à l'origine de toute la doctrine des électrolytes a été également le premier qui eut obtenu une solution colloïdale typique. Il a pu disperser de l'or métallique dans de l'eau ordinaire légèrement alcalinisée, et a également observé l'opacité de cette solution aux rayons lumineux, phénomène dont Tyndall devait montrer plus tard l'importance

et l'application pratique. Grâce à ce procédé on put constater, en effet, que les solutions colloïdales étaient des solutions hétérogènes contenant deux substances immiscibles et s'affrontant par d'innombrables petites surfaces de contact, sans pouvoir être séparées par des moyens mécaniques. Toutes les qualités si spéciales de l'état colloïdal proviennent de ce développement énorme de la surface par rapport à la masse totale.

C'est ce qui fait la différence fondamentale entre les colloïdes et les électrolytes en solution ou solides ; ainsi que l'avait déjà pu faire Faraday on obtient aisément toutes les phases avant ou après l'état colloïdal avec les mêmes sustances. Cet état ne représente qu'une étape entre l'état atomique des substances solides et l'état moléculaire des substances en solution, et on a toutes les raisons de supposer que tous les solides ou liquides peuvent se présenter sous la forme colloïdale ainsi que tous les colloïdes sous la forme solide ou liquide.

Par ses 2 éléments immiscibles et inséparables la solution colloïdale représente 2 « phases », qui peuvent être entre autres : l'émulsion (comme le lait) comportant un mélange de 2 liquides, la gelée (comme la gélatine) comportant la suspension de particules liquides dans un milieu solide ou inversement, les solutions colloïdales (métalliques) comportant la suspension de particules solides dans un milieu liquide. On peut toujours distinguer par conséquent un milieu de suspension considéré comme phase continue ou externe et une substance suspendue constituant la phase dispersée ou interne. En général on s'accorde à désigner un colloïde suivant l'état de

la phase externe, bien que l'état de la phase interne, en particulier sa solubilité dans l'eau, ait une importance fondamentale pour le comportement biologique du colloïde. Aussi Perrin a-t-il proposé de diviser les colloïdes en hydrophiles (comme la gelée) ou hydrophobes (comme les métaux) et cette distinction prime de plus en plus actuellement en biologie sous les termes plus généraux de lyophiles et lyophobes proposés par Freundlich. La variabilité de leur teneur en eau conditionne la plupart des qualités des colloïdes,et il existe un grand nombre de sels dont l'effet augmente avec leur action sur l'eau de constitution des colloïdes et que les recherches de Hofmeister ont permis de réunir (1888) en une série continue. Cette série de Hofmeister montre l'importance des différents électrolytes pour l'état colloïdal des milieux organiques.

L'étude plus complète des *milieux organiques* a montré que l'*eau* formait la presque totalité de leur substance, elle est à la base de la solution liquide qui tient en suspension la phase dispersée et, comme celle-ci est composée le plus souvent d'une substance solide imprégnée à des degrés variables avec le même solvant aqueux, il existe un balancement continu entre les 2 phases par leurs échanges aqueux et le colloïde passe constamment de l'état émulsoïde liquidoliquidien à l'état suspensoïde solidoliquidien ou inversement.

Biologiquement ces changements entraînent à leur tour des modifications de la viscosité du milieu colloïdal et du comportement vis-à-vis du milieu extérieur suivant sa composition chimique et l'instabilité colloïdale

devient ainsi un des caractères les plus frappants de l'équilibre vital.

Si la substance qui est dispersée dans la phase externe contient un sel soluble et diffusible, la dissociation électrolytique interviendra à l'intérieur des particules de la phase interne et commandera une répartition des ions en corrélation avec la nuance chimique et électrique du milieu de suspension. Ainsi chaque particule suspendue sera transformée en une petite bouteille de Leyde dont la *charge électrique* intérieure sera de signe inverse à celle de la phase continue ou externe. C'est ce qui explique l'effet sur les solutions colloïdales du courant électrique et des solutions salines, particulièrement bien étudié par Mines. Cet auteur a pu démontrer que le cœur du chien de mer est 10.000 fois plus sensible aux ions trivalents qu'aux ions bivalents même de caractère chimique très voisin, ce fait s'expliquant par la charge électrique plus importante des premiers vis-à-vis des seconds. De même une solution très faible de chlorure de cérium ne variant que la charge de quelques globules rouges du requin provoque une agglutination de ceux-ci avec les globules ayant gardé leur signe initial, tandis que la solution forte du même sel causant rapidement et simultanément une inversion de la charge de tous les globules ne modifie pas leur état de suspension dans le milieu plasmatique. Dans un certain nombre de phénomènes biologiques de précipitation tant in vivo (dans l'agglutination, l'hémolyse, la liaison toxine-antitoxine) que in vitro (dans l'application de substances colloïdales (benjoin, or, etc.) au diagnostic biologique) ; l'inter-

vention de phénomènes électriques paraît probable.

Enfin des *phénomènes chimiques* purs peuvent intervenir dans les milieux colloïdaux aussi bien que dans les autres milieux, mais comme leur caractère général ne diffère pas des réactions chimiques ordinaires nous n'y insisterons pas ici.

Retenons enfin deux qualités spéciales des colloïdes biologiques aqueux, dont l'importance est particulièrement importante dans les phénomènes de croissance et de sénescence : *l'imbibition aqueuse* et la *gélification.* L'imbibition aqueuse est un phénomène complexe, par lequel le colloïde adsorbe dans un premier acte de l'eau sous sa forme habituelle à sa surface, pour la dissoudre ensuite dans un deuxième acte dans les particules émulsionnées. Cette solution de l'eau dans un colloïde ou « Schwelling » est un phénomène encore complètement inexpliqué, dans la réalisation duquel la présence d'acides ou alcalins faibles joue un rôle important (Posnyak). En physiologie pathologique la théorie de l'œdème, proposée en 1910 par Martin Fischer, est basée sur ce fait.

La gélification est la transformation spontanée d'un colloïde de semi-liquide en semi-solide, de telle sorte que la phase solide, qui était la phase interne, devient la phase externe, contenant la phase liquide, antérieurement externe en suspension. On peut obtenir ce phénomène par une concentration de la teneur en sel ou par le refroidissement d'un mélange colloïdal antérieurement chauffé, et c'est un procédé culinaire et industriel très employé. Nous insisterons ailleurs sur l'action remarquable du calcium sous ce rapport.

IIe Chapitre. — LA CELLULE VIVANTE

La cellule vivante, plus petite unité physiologique de l'organisme représente un ensemble de corps réunis sous une certaine forme et dans certaines conditions qui lui permettent la « vie » c'est-à-dire l'accroissement et la perpétuation par division. Si nous examinons quelles sont les substances qui la composent, nous y retrouvons les trois groupes fondamentaux des Hydrates de Carbones, Graisses et Protéïnes unis aux Sels minéraux et à l'Eau. Ces notions sont trop connues pour que nous insistions ici, elles n'ont d'ailleurs pour la compréhension du problème qui nous occupe qu'une importance très minime.

Ce qui importe plus c'est la forme sous laquelle s'assemblent les constituants de la cellule et les manifestations énergétiques ou « vitales » qui en résultent.

Histologiquement la cellule se décompose en trois parties, qui si elles n'ont peut-être pas une individualité biologique assez élevée pour « vivre » toutes seules n'en ont cependant pas moins chacune une importance suffisante pour que l'absence de l'une d'elles signifie pour les deux autres un arrêt de mort.

Le *noyau* est particulièrement évident par ses caractères optiques de réfringence, et tinctoriaux de basophilie. Placé à peu près au centre de la cellule il a vis-à-vis du protoplasme un rapport défini de masse et de volume pour chaque type cellulaire, qui semble diminuer à mesure que la cellule vieillit. Le déséquilibre entre le noyau et le cytoplasme, accru outre mesure entraîne les bouleversements tensionnels intracytoplasmiques qui engendrent et parfont la division cellulaire ainsi que nous avons pu le rendre vraisemblable pour la cellule cancéreuse et qu'il a été démontré par des recherches de Brachet, Bierich, Deelmann et Watermann.

Nous n'envisagerons pas les aspects morphologiques du noyau sur lesquels on a insisté beaucoup à une certaine époque et dont, semble-t-il, bien peu de chose a une valeur physiologique réelle. Tout noyau comporte la chromatine, corps acide constitué par des nucléoprotéïnes, non saturées, et très colorable, le suc nucléaire, nucléoprotéïne complètement saturée par des albuminoïdes, incolores ou peu colorables et un nucléole constitué par des nucléoprotéïnes sursaturées à réaction basique également bien colorable. Ce qui importe biochimiquement c'est la richesse du noyau en lipoprotéïnes phosphorées chargées de régler les mouvements cytoplasmiques de la sécrétion et de la division cellulaire. Quant au rôle spécial des substances nucléaires dans l'hérédité il n'importe pas ici.

La *mitochondrie* 2e élément vital de la cellule, est une formation filamentogranuleuse de morphologie et volume très variable, de nombre et de disposition diffé-

rents pour chaque type cellulaire. Composés essentiellement de lipoïdes en disposition périphérique autour d'une cavité centrale plus ou moins grande, elles sont les pivots attracteurs, qui grâce à une constitution physicochimique déterminée attirent et retiennent électivement certaines substances auxquelles elles font subir par catalyse une série de transformations. Cette activité se termine par l'élaboration de grains de secrétions que la cellule élimine dans certaines conditions. Extrêmement fragiles, les mitochondries sont les premières à disparaître dans les affections cellulaires ; leur dissolution y provoque une tuméfaction trouble. Certaines vacuoles, petits lacs intracytoplasmiques remplis d'une solution saline diluée, semblent capables d'un travail semblable sous certains rapports à celui des mitochondries.

L'*hyaloplasma* ou « substance intergranulaire de Nageotte » est le milieu intérieur de la cellule sans lequel le travail du noyau ou des mitochondries est impossible. C'est le colloïde intra-cellulaire qui commande les relations avec le milieu extérieur extracellulaire, accumule les substances « utiles » et déverse les substances « inutiles ». Il est composé de matières lipoprotéïques dissoutes dans une solution saline et glycosée et formant un émulsoïde dont les 2 phases ne diffèrent presque que par leur teneur en eau plus forte dans la phase externe.

Ainsi le milieu cellulaire tout en conservant toutes les propriétés des colloïdes en tant que systèmes hétérogènes possède le *maximum d'homogénéïté compatible avec l'état colloïdal* ; sa cohésion est très grande et si

par une circonstance quelconque on vient à le priver d'eau il se fait une concentration simultanée et parallèle des 2 phases qui aboutit à un état de plus en plus visqueux et finalement solide, sans que le gel ait perdu sa structure physique ; il reprend rapidement et complètement sa constitution antérieure, en se gonflant tout simplement dès qu'il revient en contact avec l'eau et passe par conséquent par tous les intermédiaires entre l'état d'émulsion extrême et l'état de gélification totale. La disposition phasique du colloïde hyaloplasmique qui met en suspension les particules les plus concentrées réalise ainsi une chute continue de concentration du milieu le plus intérieur vers le milieu le plus extérieur et les échanges d'eau et d'hydrosolubles peuvent se faire ainsi par une ascension ou chute continue des énergies en action. A cette capacité d'adsorption d'eau s'ajoute encore l'hydrophilie du gel organique qui arrive à se charger d'une telle quantité supplémentaire d'eau par imbibition, que la teneur en eau du milieu intergranulaire peut atteindre une proportion énorme, jusqu'à 96 et 98 o/o, sans qu'il n'y ait dilution ou solubilisation, c'est-à-dire transformation du colloïde en une simple solution.

Le peu de différence qu'ont entre eux les 2 phases des colloïdes protoplasmiques permet une variation continue de leur constitution propre ou réciproque, l'action nécessaire pour modifier leur état étant d'autant plus faible qu'ils sont moins différents ; aussi voit-on le milieu hyaloplasmique passer presque continuellement par une série d'états inverses qui ne sont cependant que des oscillations à petite amplitude autour d'un état

d'équilibre initial. La diminution de la dispersion aboutit à l'agglutination des micelles, c'est-à-dire à la coagulation. C'est l'état sous lequel se présente habituellement le protoplasme dans les coupes histologiques, et son aspect « spumoïde » (Hardy) varie suivant le coagulant ou « fixateur » employé. L'augmentation de la dispersion peut aboutir à la liquéfaction ou dissolution et c'est l'effet qu'ont sur la substance cellulaire certains ferments biologiques, comme par exemple ceux sécrétés par les leucocytes polynucléaires.

C'est entre ces deux états extrêmes qu'oscille le milieu vivant. Si on l'examine à l'ultramicroscope on le trouve le plus souvent optiquement vide, par suite de la presque homogénéité de ses 2 phases et ce n'est que dans les derniers moments qui précèdent la coagulation ou la dispersion totale que l'on arrive parfois à reconnaître des particules brillantes animées de mouvements browniens et assez réfringentes pour trancher par différence sur la phase continue.

Ainsi constitué le cytoplasme contient à son intérieur des *enclaves* de nature variée surtout des vacuoles et des grains et se trouve séparé du milieu extérieur par une barrière électivement perméable dans les deux sens ce qui permet le maintien de sa composition à un état à peu près constant. Mais l'affrontement d'un milieu extérieur par les parties périphériques du milieu intérieur y entraîne toute une série de perturbations d'ordre physique et chimique qui se traduisent par l'apparition de forces et de qualités nouvelles et dont l'ensemble constitue la partie la plus importante des fonctions de relation de la cellule.

Parmi ces fonctions de relation nous retiendrons un instant : les forces qui agissent en surface, la constitution de la couche de passage et les forces qui agissent sur les susbtances de passage.

Ce sont des expériences de physique pure qui ont montré à l'origine l'existence de conditions différentes tant à la *surface* d'un corps qu'à son *intérieur*, d'une part par la modification des actions intermoléculaires à ce niveau, d'autre part par le contact avec un milieu de composition différente. Suivant le principe de Willard-Gibbs-Thompson que la concentration à l'intérieur d'un système liquide tend à y réduire l'énergie en tous points à un minimum, toutes les substances capables de diminuer l'énergie de surface se trouvent en concentration plus élevée dans les parties périphériques de la cellule. Il se crée ainsi une condensation de surface qui se compose de certains corps gras et protéïques, et de certains électrolytes p. e. le potassium (Macallum).

L'effet de cette *condensation superficielle* varie considérablement suivant que la cellule affronte un milieu solide, liquide ou gazeux, sans qu'il y ait pour cela des lois invariables. Toujours cependant la tension superficielle conditionne la mobilité, la contractilité, l'état sécrétoire et enfin la forme de la cellule. Celle-ci tend d'autant plus à s'étaler et à varier sa forme que la tension superficielle est plus basse, d'autant plus à s'arrondir et à conserver cette réduction de sa surface que la tension superficielle est plus élevée. La condition si spéciale de sa surface permet à la cellule d'y agglutiner et par simple contact d'autres substances. Il se fait une attrac-

tion purement physique des substances d'affrontement et la proportion que la cellule arrive à en fixer peut atteindre des chiffres considérables. Dans l'organisme tout porte à supposer que de nombreux phénomènes se font selon le *type de l'adsorption*, comme par exemple la liaison toxine-antitoxine (Craw), la sensibilisation microbienne par les opsonines leucocytaires (Ledingham), l'action de certains poisons (Morawitz), l'action de nombreuses diastases (Bayliss), l'action de l'iode sur l'amidon (Barger et Field). La substance organique capable au plus haut degré de maintenir ou réaliser l'adsorption est la lécithine dont le rôle dans les phénomènes d'échanges n'est encore qu'imparfaitement élucidé. En industrie et en histologie la technique des colorations électives est basée en grande partie sur l'adsorption des colloïdes.

A cette action purement *mécanique* dont l'importance ne saurait être exagérée s'ajoutent une action *chimique* et une action *électrique*. Cette dernière ne diffère pas dans son caractère général des phénomènes de *polarisation* sur lesquels nous avons déjà insisté auparavant. La répartition des ions le long d'une surface de séparation, plus ou moins importante, se traduit par une couche double de particules électriques de sens opposé qui s'affrontent. Dans toute « Doppelschicht » de ce genre pour peu qu'elle soit en surface, l'énergie électrostatique tend à une extension de la surface, c'est-à-dire à une réduction de la tension superficielle, parce que les particules de même signe se repoussent, tandis que l'attraction moléculaire des substances formant la surface s'y

oppose. Ainsi les propriétés électriques des substances de surface contribuent à leur tour à diminuer la tension superficielle et entrent ainsi en conflit avec l'attraction moléculaire. Il en résulte une membrane élastique, dont la puissance rétractile et contractile dépendra du rapport entre les forces moléculaires d'ordre gravitatif et les énergies inverses d'ordre surtout électrique. Dans cet antagonisme des forces intervient le caractère électrique des substances d'affrontement.

Il s'agit là d'un phénomène encore peu connu et difficile à mesurer exactement par des méthodes précises, dans lequel cependant les travaux d'Ostwald, Jean Perrin, Pierre Girard, Nernst, ont déjà porté maintes lueurs. Créée spontanément si la solution saline d'imprégnation est légèrement acidifiée ou alcalinisée par la dissociation d'un sel par exemple, la polarisation du septum amène le long de la membrane de surface une distribution des ions. Celle-ci déterminera par le déplacement simultané des ions $H+$ et $OH-$ une polarisation positive ou négative de la surface du colloïde. La membrane polarisée affronte un milieu salin dissocié dans lequel suivant Nernst deux forces agissent sur les ions : la poussée osmotique et le champ électrostatique créé par les ions dissociés de signe inverse et de mobilité différente. Suivant la position des signes électriques du champ de passage de la « Doppelschicht » ou « membrane électrique » de la cellule, le passage des ions de signe inverse sera plus favorisé que celui des ions de même signe et, toutes autres conditions invariables, il y aura une accumulation à l'intérieur de la cellule d'ions de signe in-

verse, d'autant plus forte que ceux-ci seront plus mobiles. Dans certaines conditions,comme l'a montré Girard,l'inversion du signe électrique extérieur peut même réaliser une perméabilité ionique élective qui n'existait pas auparavant. C'est ainsi que, suivant des expériences récentes de Girard et Mestrezat, on pourrait expliquer la sécrétion de l'acide chlorhydrique dans l'estomac et certains autres phénomènes d'excrétion cellulaire que l'on s'était contenté de considérer tout simplement comme des « phénomènes vitaux ». De même certaines interactions entre les globules rouges et le plasma,variables dans le sang artériel et le sang veineux, se font probablement suivant le même mode. D'ailleurs les énergies de surface étendent leur action dans les couches superficielles ou couches de passage et la constitution de celles-ci intervient à son tour dans les phénomènes d'interactions cellulaires.

En même temps que se réalisent ces groupements et concentrations de la surface liminaire,des regroupements tributaires des premiers remanient les *couches externes* du cytoplasme et lui donnent une consistance différente du reste de l'hyaloplasme, qui décroît à mesure que l'on progresse vers le centre. C'est ce tassement superficiel que certains auteurs opposent sous le nom d'ectoplasme à l'endoplasme plus central, et qui constitue sinon histologiquement du moins physiologiquement une couche de passage spéciale que l'on est en droit de comparer à la membrane de la cellule végétale. Pour les substances albuminoïdes la condensation équivaut parfois à la coagulation et c'est sous une forme plus ou moins com-

pacte (Ramsden) qu'elles se coordonnent dans les couches superficielles, mais elles n'y forment qu'une petite proportion. En effet suivant le principe de Gibbs ce sont les substances abaissant la tension qui sont entraînées vers la surface et comme cette propriété revient en première ligne aux graisses et aux lipoïdes, on trouve dans la couche de passage ou dans la « membrane » cellulaire une grosse proportion de phosphatides et de stéarines.

Il n'y avait pas eu besoin de la notion du pouvoir abaissant des lipoïdes ni du principe de Gibbs pour faire admettre l'existence ou la seule présence de lipoïdes au niveau de la surface cellulaire. Overton avait dès le début de ce siècle démontré que la membrane cellulaire était électivement perméable aux liposolubles et cette opinion avait été d'autant plus volontiers acceptée que de nombreux phénomènes biologiques y trouvaient pleinement leur explication. Il était cependant évident que la plupart des échanges ne pouvait pas s'accorder avec une perméabilité élective aux alcools, éthers, chloroforme, etc., inconnus dans le milieu vivant. C'est pourquoi la théorie lipoïdique de la membrane cellulaire fut battue en brèche dès son apparition. La présence de protéïques fut rendue vraisemblable par les recherches de Harvey (1912), Osterhaut (1911) et Leathes (1910), qui put démontrer la structure complexe des lipoprotéiques, du type des « lipines ». Les expériences sur l'hémolyse par les saponines avaient d'abord semblé confirmer nettement la théorie de la nature lipoïde des membranes cellulaires. Mais les recherches de Pascucci et de Mines mirent en évidence des protéïnes dans la mem-

brane du globule rouge Rywosh en montrant suivant les espèces animales une influence exactement inverse des saponines et des solutions salines hypotoniques, non liposolubles sur la membrane du globule, montra que les corps lipoïdiques et protéïques participaient en proportions variables, le plus souvent exactement inverses à la constitution de cette enveloppe.

Des recherches plus récentes entreprises avant la guerre par Mayer et Schauffer, reprises depuis par Brinkmann et van Dam ont montré que les lipoïdes et corps gras entraient dans la composition de toutes les cellules et de tous les tissus, mais en proportion variable pour chacun d'eux, de sorte que l'on peut établir pour chaque tissu une proportion fixe d'acides gras, de phosphatides et de stéarines. Les acides gras solubles, diffusibles, augmentant et diminuant suivant les conditions des désanimation, combustion et nutrition du moment représentent l'élément le plus mobile, dont l'estimation ne permet pas de caractériser une cellule plutôt qu'une autre. La cholestérine semble au contraire avoir une valeur constante pour chaque cellule, tissu et espèce donnée. Non solubles dans l'eau, ces substances le deviennent d'une façon remarquable par le mélange dans les proportions les plus variées et c'est ainsi que le rapport cholestérine : acide gras ou *rapport lipocytique* déduit théoriquement et démontré expérimentalement par Mayer et Schauffer commande dans toutes les cellules la teneur en eau. On peut donc admettre à présent que c'est le mélange cholestérine : acides gras d'une part, la composition protéï-

dique d'autre part qui interviennent dans la perméabilité des membranes cellulaires, les électrolytes jouant un rôle à part. Quant à la disposition structurale de ces substances dans la périphérie cellulaire on n'en sait encore rien de précis, mais il semble que la conception d'une mosaïque ou damier, proposée par quelques auteurs soit inexacte. Ainsi constituée la couche de passage n'est pas perméable d'une façon égale aux diverses substances.

Comme on peut y voir pénétrer sous certaines conditions non seulement des cristalloïdes, mais aussi des colloïdes, il faut admettre que ceux-ci y trouvent des voies de cheminement qui leur facilitent l'accès à l'intérieur sans entrer en solution avec les couches traversées. Les seuls espaces que l'on peut considérer comme aptes à ce transit sont les espaces intermicellaires et la dimension de ces espaces variant dans de nombreuses conditions, ce sont ces conditions qui en dernier ressort commanderont la perméabilité aux colloïdes. La théorie des Atomsiebe de Traube, filtres plus ou moins grossiers permettant le passage de particules, molécules ou atomes de volume approprié n'est que partiellement exacte. La solubilité des substances, leur degré d'acidité, leur charge électrique viennent compliquer cette conception trop simpliste.

Enfin la *composition chimique* à l'intérieur et à l'extérieur d'une cellule apporte aux phénomènes biologiques un correctif nouveau, par l'action de la pression osmotique. A vrai dire cette notion dérivée, selon Dutrochet, de phénomènes extrêmement simples étudiés sur des subs-

tances inertes, élargie, approfondie, généralisée par les travaux de de Vries, Pfeffer, Traube, van't Hoff, Nernst, Raoult, Hamburger et tant d'autres,ne s'applique qu'exceptionnellement aux colloïdes « vivants » ; d'autres phénomènes, tous ceux que nous venons d'étudier brièvement, s'ajoutent à ceux-ci.

On sait que la pression osmotique mesure la pression qu'exerce dans une solution un sel vis-à-vis du solvant à l'état de pureté, la solution la plus concentrée exerçant à travers une membrane semi-perméable une traction sur la solution qui l'est moins. Les bases physiques de ces phénomènes sont données par la théorie cinétique de Lavoisier. Van't Hoff qui le premier en a entrevu l'application générale a montré que la pression osmotique d'un liquide correspond aux phénomènes de la tension des gaz. Comme ceux-ci se trouvent toujours dissociés à l'état de particules atomiques ou moléculaires, c'est le nombre des particules qui commande la pression osmotique et celle-ci reste la même à nombre égal quelle que soit la particule qui intervient dans le milieu agissant, molécule, atome, ion ou colloïde.

C'est pourquoi la pression osmotique sera particulièrement élevée dans une solution d'électrolytes dissociés, particulièrement basse dans une solution micellaire ou colloïdale dont le nombre des particules sera infiniment moindre à volume égal de liquide. De plus les colloïdes diminuent encore la pression osmotique en absorbant les ions et molécules libres de la phase continue et en les empêchant ainsi d'agir à leur propre compte. On a voulu faire jouer à l'osmose un rôle biologique de première

importance dans les phénomènes banaux de la vie cellulaire expliquant ainsi les variations de volume, les phénomènes de gonflement cellulaire dans une série de processus physiologiques tels que la croissance, la sécrétion glandulaire et lymphatique et les résorptions interstitielles. De fait, du moins pour la cellule animale, il semble que ce rôle soit très réduit eu égard à tous les autres mécanismes qui conditionnent les interactions cellulaires et toute la vie de relation d'une cellule vis-à-vis d'un milieu donné tel qu'il existe chez les êtres supérieurs.

Le *milieu intérieur* a pour tous les métazoaires la même importance que l'eau de mer pour les protozoaires, en particulier pour les êtres maritimes. De fait ces deux liquides se ressemblent étrangement tant dans leur composition moléculaire que dans leur densité totale et des savants très remarquables ont voulu en tirer argument pour l'origine maritime des espèces vivantes.

Le liquide intérieur, c'est-à-dire le sang, tend vers une *constance de composition* au maintien de laquelle tant au point de vue chimique que physique contribuent un grand nombre de glandes tel que le foie, le rein, le poumon, les glandes vasculaires sanguines, etc. Cette constance de composition que l'on peut comparer à l'équilibre de Donnan se traduit par de nombreuses propriétés physiques telle que la constante isoélectrique, la constante de densité moléculaire, la constante de concentration en ions H, la constante de tension de gaz, etc..

J. L. Henderson a été un des premiers à entrevoir, puis à démontrer cette loi fondamentale qui seule permet la

continuité physiologique dans les phénomènes vitaux des êtres supérieurs. Il a pu réunir après de nombreuses et patientes recherches la concentration de l'oxygène libre et combiné, celle de l'acide carbonique libre et combiné, celle des chlorures et des ions H en un nomogramme didimensional. Ainsi pour la première fois six variables biologiques ont été ramenées à un seul équilibre physicochimique qui permet du même coup de prévoir l'équilibre des bases et acides, le degré de dissociation du gaz O^2 et CO^2, la répartition des chlorures et l'influence de l'absorption ou liaison oxygénée sur l'affinité de l'hémoglobine aux bases du sang. Ce qui nous semble particulièrement remarquable dans cette découverte c'est que les détails proprement chimiques par lesquels cet équilibre est maintenu dans sa constance physique n'importent que peu. Le milieu sanguin n'a aucune stabilité de constitution chimique et peut se modifier à tout moment dans sa composition, plusieurs éléments propres intervenant immédiatement et spontanément pour rétablir un équilibre rompu momentanément par un apport extérieur (nutrition),un intérieur (déchet). On trouve par conséquent dans le sang toute une série de substances destinées à intervenir dans cette équilibration constante. D'après Henderson les plus importants sont le système des phosphates et le système des carbonates qui réalisent tous deux par le jeu de leurs sels basiques ou acides à des degrés variables une gamme de nuances chimiques souvent extrêmement fines, parfois largement variables et d'une adaptation aux besoins du moment qui confine presque à « l'intelligence ». Aussi n'a-t-on pu faire

mieux que de choisir ces mêmes systèmes de compensation physico-chimiques quand il s'est agi de reproduire *in vitro* des solutions capables de mesurer les variations de l'acidité totale à l'alcalinité totale, ainsi que Sörensen l'a indiqué le premier (1909). Depuis cette époque ces substances tampons, dont Fernbach avait déjà entrevu en 1900 l'importance pour le maintien de la neutralité d'un milieu, sont considérées comme les agents principaux de la « neutralité » du sang.

Un deuxième élément qui intervient comme régulateur de la constance du milieu vital, ce sont les électrolytes dont le rôle nous apparaît sans cesse grandissant depuis les premières observations de Ringer en 1861.

Enfin en troisième lieu interviennent les protéïques et les corps gras. Les protéïques ne semblent qu'intervenir faiblement par les combinaisons plus ou moins solides qu'ils peuvent contracter avec les acides et bases faibles du sang. Henderson qui a longuement étudié la part qui leur revient dans la constante de neutralité du sang a montré que même en forte concentration les albuminoïdes ne parviennent qu'à fixer une petite proportion de HCO^3-, combinaison immédiatement compensée par le dégagement d'une proportion correspondante de gaz CO^2. Les lipoïdes interviennent par la constante lipoïdique ou le coefficient lipémique de Terroine qui correspond au rapport lipocytique de Mayer et Schaeffer et commande le degré d'absorption d'eau ou la concentration hydrémique du sang sans intervenir dans le jeu des antagonistes chimiques. Le rôle des déchets (urée, acide urique, etc.), n'intervient pas dans cette question.

Il semble en somme que le sang ou milieu d'immersion intérieure soit doué d'une constance remarquable de ses propriétés physiques par le moyen de différents jeux chimiques ou physico chimiques.

Dans les cellules nous ne retrouvons pas cette constance physique de la constitution. Au contraire ici les mêmes matériaux de constitution se coordonnent en des *rapports différents* pour chaque tissu et cellule donnant à chacune son individualité chimique et chimico-physique propre. Voyons brièvement à quoi tient cette particularité de la cellule et ce, qui lui permet de varier sa constitution.

On ne peut concevoir la différence entre la cellule qui représente une individualité et le sang qui représente une communauté qu'après avoir compris la nécessité absolue pour le sang de maintenir constantes ces conditions physiques. Si cette constance est la garantie de la valeur vitale du milieu commun, c'est au contraire la différence d'avec cette composition physique, la variation qui est la condition primordiale d'une vie autonome pour l'individualité viscérale, tissulaire ou cellulaire. Toutes les forces physiques tendent vers la réalisation d'un équilibre qui supprimerait les chutes ou déplacement d'énergie. La vie en tant que manifestation énergétique n'est possible qu'en cas d'une différence d'équilibre et la cellule réalise des chutes d'énergie, des différence d'équilibre tant à son intérieur qu'à son extérieur. Composée de substances chimiquement définies, dont le rapport réciproque crée des caractéristiques cellulaires, elle en varie continuellement la quantité proportionnelle et permet

ainsi toute une série de transformations énergétiques dont l'enchaînement représente la « vie ». Ces rapports, quotients ou coefficients que l'on peut séparer un peu artificiellement en rapports purement intérieurs, primitifs ou de constitution et rapports extérieurs, secondaires ou de relation sont de différente nature et il nous suffira d'en rappeler un certain nombre qui nous sont déjà apparus dans les lignes précédentes.

Ainsi il existe un coefficient de relation entre le noyau et le cytoplasme et sa variation commande la division cellulaire ; il existe un coefficient de relation entre les teneurs liquidiennes des 2 phases colloïdales et sa variation commande la force d'imbibition de la cellule ; il existe un coefficient de relation entre le volume et nombre des particules colloïdales de la phase interne et la quantité de liquide de la phase externe et sa variation commande la viscosité de la cellule ; il existe un coefficient de relation entre la dissociation électrolytique et la mobilité des ions constituants et sa variation commandent l'énergie électrostatique de la cellule ; il existe un coefficient de relation entre le nombre des particules colloïdales, moléculaires, atomiques et ioniques et la quantité totale du liquide et sa variation commande la pression osmotique de la cellule ; il existe un rapport entre les lipoïdes et les acides ou coefficient lipocytique et sa variation commande la capacité aqueuse de la cellule ; il existe probablement un rapport entre les protéïnes et les acides aminés et sa variation commande les actions diastasiques de synthèse ou d'hydrolyse à l'intérieur de la cellule ; il existe un rap-

port entre la surface intérieure totale et le volume total et sa variation commande les phénomènes d'oxydation et peut-être de catalyse à l'intérieur de la cellule (Warburg). Tous ces rapports intérieurs sont variables et probablement plus ou moins solidaires les uns des autres.

Leur ensemble conditionne l'importance et la variabilité des rapports extérieurs ou de relation, le milieu extérieur étant supposé momentanément constant et invariable. Ainsi la force d'imbibition de la cellule et son coefficient lipocytique se combinent pour réaliser la capacité d'adsorption de la cellule ; la viscosité, le coefficient lipocytique et le rapport des protéïnes aux acides aminés convergent leurs effets dans la tension superficielle ; la teneur en acides aminés et le rapport de surface intérieure (Warburg) réalisent le pouvoir diastasique extérieur ou une des formes de la secrétion cellulaire ; l'énergie électrostatique et la pression osmotique conditionnent la perméabilité des couches de surface, tant au point de vue électrique ou ionique que du point de vue chimique ou moléculaire. Il en est ainsi de nombreuses manifestations de la vie cellulaire et le court aperçu que nous avons pu en donner témoigne déjà de l'étroite corrélation qui existe entre la constitution de la cellule et ses fonctions spécifiques. L'élasticité, la multiplicité et la combinaison des « rapports » diathésiques de la cellule permettent des variations assez larges vis-à-vis du milieu intérieur et c'est le jeu de ces variations et de leur compensation qui règlent absorption, élaboration et élimination de la cellule vivante.

Il en est de même pour la communauté de l'organisme, qui montre une certaine fixité dans sa constitution que le fonctionnement « vital » s'efforce de maintenir dans la variabilité du métabolisme et des relations extérieures et on pourrait étendre cette comparaison à l'ensemble d'une société d'organismes. Qu'il nous suffise de retenir à la fin de cette courte étude que la composition moyenne caractérise l'espèce et la race, la composition absolue l'individu. Ordre et rapidité de la variabilité de cette composition absolue dans les limites étroites des oscillations autour de la composition moyenne forment le tempérament qui est l'expression propre du rythme de notre vie végétative. C'est dans cette équilibration qu'intervient d'une façon constante et très importante le calcium tant par lui-même que par l'antagonisme avec d'autres électrolytes et c'est ce que nous allons vérifier.

DEUXIÈME PARTIE

L'ACTION DU CALCIUM SUR LES MILIEUX VIVANTS

Ier Chapitre. — DOSAGE DU CALCIUM

Avant d'entrer dans le détail de notre sujet nous voudrions exposer en quelques mots les techniques suivies dans la recherche du calcium pour permettre ainsi la comparaison avec d'autres méthodes ou la confrontation avec d'autres résultats obtenus par la même méthode.

Il existe un grand nombre de méthodes pour le dosage chimique du calcium et depuis la communication de Lyman en 1917, trois ou quatre procédés ont été indiqués, en particulier par des auteurs américains. Dans ses nombreuses et remarquables recherches sur le calcium le Prof. Blum, de Strasbourg, s'était servi avec Aubel, de la méthode de Kramer et Howland qui lui a donné des résultats assez constants. Nous avons également suivi au début cette technique, puis nous avons adopté une méthode plus simple à notre avis et indiquée en 1921

par P. Cristol, de Montpellier. Cette méthode a l'avantage de demander moins de temps que les méthodes américaines qui exigent pour le moins 24 heures. Vis-à-vis de la méthode néphélimétrique de Howland qui comporte des petites erreurs peu importantes, mais surtout un matériel d'appareils spéciaux que nous n'avons pas pu nous procurer, la méthode de Cristol, basée sur la précipitation de l'oxalate de chaux en acide trichloracétique dilué donne des chiffres identiques à ceux obtenus avec la technique de Kramer, de Halverson-Bergheim ou de Lyman. Comme cette technique nous a semblé très peu connue, nous en donnons ici un résumé d'après Cristol :

Réactifs nécessaires : Acide trichloracétique au cinquième (20 o/o) ;

2° Soude à 30 o/o, 36° B ;

3° Solution alcoolique de phénolphtaléïne à 2o/o ;

4° Acide sulfurique pur et acide sulfurique au quart ;

5° Oxalate d'ammonium à 3 o/o ;

6° Permanganate de potassium N/20 (1 gr. 58 o/oo), 1 cm³ = 0 gr. 001 Ca.

Mode opératoire : Mesurer exactement 10 ou 12 cm³ de sérum et une égale quantité d'acide trichloracétique au cinquième. Battre le tout avec un agitateur en verre et filtrer sur filtre sec.

Prendre 10 cm³ du filtrat (qui correspondent à 5 cm³ de sérum). Neutraliser presque complètement (neuf à dix gouttes de NaOH à 30 o/o donnent l'acidité optima). Chauffer à ébullition après avoir ajouté au tout 50 cm³ d'eau distillée environ. A l'ébullition ajouter 10 cm³

d'oxalate d'ammonium à 3 o/o. Laisser digérer le tout à presque ébullition en modérant le feu pendant cinq minutes, puis laisser refroidir. Filtrer et laver vase et filtre avec une solution d'acide trichloracétique à 1 o/o neutralisée, environ 10 cm. en 3 fois c'est-à-dire jusqu'à disparition de la réaction des oxalates dans le liquide de lavage. Mettre alors sous l'entonnoir un vase à précipitation chaude contenant 50 cm³ d'eau distillée et 5 cm³ d'acide sulfurique pur. Versèr sur le filtre 10 cm³ d'acide sulfurique au quart et laver le filtre deux fois avec un jet de pissette. Porter à 80° environ et titrer avec le permanganate N/20 jusqu'à légère coloration rose persistante en employant une microburette de 2 cm³ graduée au centième de cm³. Suivant le nombre de centimètres cubes de permanganate employés on obtient :

Ca gr. $^{0}/_{00}$ = 0 gr. 001 × N cm³ permanganate × 200,

c'est-à-dire Ca gr. $^{0}/_{00} = \frac{\text{N cm}^3}{5}$.

Si l'on veut opérer sur de plus faibles quantités de sérum il faut titrer avec du permanganate N/100 et corriger la formule finale en conséquence. Cependant nous n'avons pas toujours eu des chiffres identiques dans des expériences de contrôle sur de petites quantités de sérum.

Pour *dosage de calcium dans les tissus* nous nous sommes servis de l'incinération en milieu acide et avons titré le calcium au permanganate de potassium N/100 après l'avoir précipité sous forme d'oxalate en solution alcaline. Les chiffres obtenus ne varient presque pas si

on prend soin de se servir d'acide oxalique très pur, suivant la technique de Denigès et de laver toujours le même nombre de fois (5) à l'eau chaude.

Pour la *recherche histochimique* du calcium dans les tissus nous nous sommes servi de la technique indirecte indiquée par Macallum. Cette technique est très imparfaite, comme l'avoue son auteur lui-même, mais il n'en existe pas de meilleure pour la découverte de petites quantités de calcium, la technique de Grandis et Mainani (1900) à l'anthraquinone hydroxylée ou purpurine ne donnant la belle réaction rouge qu'en présence de grandes quantités de calcium, et la technique au pyrogallol de Kossa ne montrant presque que le calcium salin en précipitation dans les tissus calcifiés, ou celui des tissus osseux.

A. B. Macallum eut l'idée de modifier la méthode histochimique pour la recherche des sulfates dans les tissus et obtint ainsi des résultats appréciables. Les coupes congelées sont mises immédiatement dans l'alcool-acide sulfurique, c'est-à-dire un mélange de 100 parties d'alcool absolu pour 2 parties d'acide sulfurique pur, et y séjournent 20 minutes. Elles sont ensuite lavées soigneusement dans l'alcool absolu changé 2 ou 3 fois pour chasser toute trace d'acide et sont transvasées dans une solution d'acétate de plomb N/10 où elles restent 30 minutes. Après un lavage très prolongé à l'eau distillée qui chasse toute trace d'acétate (laisser goutter dans une solution de sulfate faible) on place enfin la coupe dans un mélange à parties égales de glycérine pure et de sulfite d'ammoniaque acide. Le précipité de sulfite de plomb

prend la place du calcium. Par l'alcool sulfurique on transforme le calcium en combinaison organique, en sulfate de calcium, insoluble dans l'alcool, et on obtient par l'adjonction d'acétate de plomb un sulfate de plomb insoluble dans l'eau, mais incolore. C'est pourquoi il faut transformer ce sulfate en sulfite noir pour le mettre facilement en évidence. Pour éviter une combinaison des phosphates organiques avec le plomb, on passe après le bain d'acétate pendant 3 minutes dans de l'acide azotique N/10, mais nous n'avons guère constaté de résultats différents par ce bain supplémentaire.

Quoiqu'en dise Macallum cette méthode n'est pas très utile. Elle montre la présence de calcium, mais elle ne permet absolument pas de diagnostic de localisation topographique ni dans les limites cellulaires ni dans des limites précises des tissus à examiner. On peut avec une certaine habitude juger de l'importance du calcium présent, mais jamais de sa répartition précise.

Il nous a été parfois possible et c'est pourquoi nous y insistons ici, de démontrer l'absence probable de calcium par un procédé indirect de la recherche du potassium dans les tissus, le potassium ne se trouvant à peu près jamais d'une façon diffuse et intense dans un tissu quand il y existe une grosse proportion de calcium. Pour ce on se sert du réactif cobaltique de de Korinck (1881) et Curtman (1881) modifié par Billmann, Macallum, Hamburger et d'autres.

Pour la recherche dans les tissus on se sert d'une solution acidifiée de sodiumcobaltonitrite et on obtient par ce procédé une précipitation de hexanitrite et cobalti-

sodium potassium sous forme de petits cristaux dodécaédriques de volume variable et de teinte jaune canari à jaune orange insoluble dans l'eau très froide.

Du point de vue technique l'essentiel c'est de procéder très rapidement pour empêcher la diffusion des sels de potasse. En général on évite cet inconvénient en immergeant les coupes encore gelées. On obtient alors après un quart d'heure une teinte légèrement jaunâtre parfois rouge brique et on doit immédiatement laver à plusieurs reprises à l'eau glacée (dans des verres de montre reposant sur un mélange de glace et de sel), en passant de temps en temps dans une solution très diluée 2 o/o de sulfite d'ammoniaque pour vérifier s'il ne se dégage plus de sels cobaltiques. On monte dans un mélange de sulfite d'ammoniaque et de glycérine pure à parties égales.

Macallum a montré que l'on peut mettre en évidence de toutes petites quantités de potassium par le réactif au sulfite d'ammonium acide qui donne un précipité de sulfite de colbat noir. Comme nous ne nous sommes pas servi de cette modification dans les recherches qui paraîtront dans cette thèse, nous n'y insisterons pas.

Enfin nous avons employé pour deux ou trois cas spéciaux le *dosage du Potassium et du Sodium* dans les tissus ou le sérum et nous sommes servis dans les premiers cas de la technique de Hamburger (1917), modifiée par Kramer en 1920, dans le second de la technique au pyroantimoniate de potasse également mise au point par Kramer. Cependant ces 2 recherches n'entrant pas dans le cadre de notre sujet nous n'y insisterons pas.

IIe Chapitre. — ACTION BIOLOGIQUE GÉNÉRALE DU CALCIUM ET DE QUELQUES ÉLECTROLYTES ANTAGONISTES

1. Action des solutions physiologiques

L'action d'un élément chimique quelconque en solution neutre sur un tissu quelconque à condition qu'il soit vivant, c'est-à-dire dans un équilibre colloïdal plus ou moins stable, peut se manifester par 3 modes différents (Baylis). On peut constater une *action physique électronique* qui est d'autant plus marquée que l'élément a une plus forte valeur atomique ; cette action semble porter sur les membranes cellulaires et régir les échanges par déplacements électroniques (Arrénius, Nernst, P. Girard). On peut constater une *action lyophile ou lyophobe* (Perrin, Freundlich) qui dépend de certaines qualités physicochimiques des atomes (Zwaardemaker, J. Loeb, Botazzi) et conditionne l'état d'imbibition, la « Schwellung », des tissus ; c'est à cette action qu'il faut rapporter certains phénomènes très caractéristiques obtenus avec le calcium, le potassium, le magnésium, etc. Enfin il existe *une action chimique* à

proprement parler qui provoque, pour des solutions très semblables et isotoniques des réactions tissulaires tout à fait différentes. Telles sont les actions antagonistes du potassium et du sodium, que les recherches cliniques récentes de M. le Prof. Blum (Strasbourg) viennent de remettre en valeur.

En pratique on ne peut toujours distinguer schématiquement ces trois modes d'action théoriquement différents et comme pour les phénomènes régissant la chimie physique des colloïdes, ces phénomènes se combinent pour les électrolytes.

L'étude des rapports quantitatifs et qualitatifs entre les électrolytes et les milieux vivants est de date relativement récente et il nous paraît intéressant d'insister un instant sur sa genèse. Les premières expériences physiologiques qui ont porté sur des animaux marins ou amphibies furent pratiquées à peu près à l'époque de l'avènement de la théorie de la pression osmotique et les chercheurs eurent très vite l'idée d'opérer dans un milieu à peu près isotonique aux liquides de l'organisme. La teneur de l'eau de mer en Na Cl et la présence constante de ce sel dans les humeurs de l'organisme permettait d'y voir la substance la plus adéquate et ainsi se servit-on du sérum « physiologique ». Ringer dans des recherches sur le cœur de grenouille fut étonné de voir ses battements décroître dès le début et cesser déjà après environ 10 minutes, en même temps que disparaissait l'excitabilité électrique de l'organe. L'adjonction d'une petite quantité de calcium (5 cm^3 d'une solution à 0.25 o/o à 100 cm^3 de sérum physiologique) fit réappa-

raître les battements spontanés après avoir rétabli d'abord l'excitabilité électrique ; mais la diastole maintenant n'était plus complète et l'on observait une tendance progressive vers un arrêt en systole par hypertonicité musculaire. En étudiant successivement l'effet de l'adjonction de différents sels, Ringer constata après de nombreuses recherches que la présence de traces de potassium (1 cm. d'une solution à 1 o/o de KCl ajouté à 100 cm. de sérum physiologique) supprimait cet excès de tonicité sans faire réapparaître l'effet nocif du chlorure de sodium. Ainsi était réalisée une solution physiologique « rectifiée » à laquelle par la suite Ringer ajouta une trace de bicarbonate de soude pour maintenir l'alcalinité et neutraliser les faibles quantités d'acide produites par le travail du muscle cardiaque.

Deux séries de travaux devaient découler de cette découverte fondamentale de Ringer : *la recherche des solutions physiologiques les plus adéquates* au milieu vivant et *l'étude de l'antagonisme des sels*.

Frappé par la quantité de NaCl entrant dans la constitution des animaux terrestres par comparaison avec le milieu terrestre ambiant Bunge avait en 1894 émis l'hypothèse d'une origine maritime commune dans les êtres vivants. Ces idées dont il n'est pas évident qu'elles se soient greffées sur les recherches de Ringer y trouvèrent cependant un appoint très considérable. La concordance devint d'autant plus frappante que des analyses minutieuses montrèrent les mêmes éléments dans les mêmes proportions dans l'eau de mer et le liquide de Ringer, à part le Mg qui n'est pas nécessaire pour

tous les tissus. Macallum reprit la question dans son ensemble et conclut au *passage terrestre des animaux marins* vers l'époque du Cambrian, supposant qu'à cette époque la teneur en Mg était encore dans les proportions des milieux sanguins actuels. Depuis, le principe de la composition physiologique de l'eau de mer fut universellement accepté et naturellement servit à de nombreuses applications thérapeutiques plus ou moins appropriées. Les physiologistes s'en emparèrent également et chacun trouva une nouvelle substance destinée à augmenter la « valeur » de la solution de Ringer (Locke, Tyrode, Howell, Green, Rögers, Burnett), mais sans distinguer entre la valeur isophysiologique et isotonique simple, c'est-à-dire non nocive, et la valeur nutritive accessoire que ne possède nullement l'eau de mer. Dans une excellente étude critique de tous ces travaux Loeb sut montrer que l'essentiel pour la conservation tant des battements cardiaques que de l'excitabilité musculaire squelettique était une solution isotonique au sang de l'animal et contenant pour 100 molécules de NaCl, 2 de $CaCl^2$ et 2 de KCl. Cette solution il put l'éprouver sur un très grand nombre de crustacés (Gammarus), mollusques (Gonionemus) et poissons inférieurs (Fundulus) et vérifier sa bonne composition.

Mais Loeb sut faire plus en montrant pour la première fois (1903) d'une façon nette que la *composition physiologique* ne tenait non pas seulement au besoin vis-à-vis de tous ces sels, mais à leur *antagonisme d'action*. Un sel seul peut être toxique, tandis que le mélange avec un autre ou deux autres ne l'est plus. Nous

ne citerons pas ici les expériences classiques de Loeb et de ses collaborateurs, de Delezenne et Mlle Ledebt sur les poissons inférieurs et retiendrons simplement que le calcium n'est presque jamais toxique même seul, et que toujours il montre l'action antitoxique la plus prononcée vis-à-vis des autres sels. On devait donc se demander comment il agissait et cette question, agitée dès le début, n'est pas encore résolue à l'heure actuelle. Nous tenterons de lui donner une solution provisoire à l'aide de recherches personnelles et par comparaison avec les travaux d'autres auteurs.

2. Action du Calcium

Le premier auteur qui ait systématiquement recherché cette action est Hardy dont les travaux s'échelonnent de 1892 à 1914 et comportent surtout l'étude de la constitution physicochimique du milieu colloïdal et l'action du calcium sur ce milieu. Dans une de ses premières expériences il put montrer que l'apport de calcium dans une solution de blanc d'œuf y fait apparaître des dispositions structurales qui rappellent en tous points la constitution du colloïde cellulaire telle que la montrent les fixations par les techniques convergentes. Nous avons pu répéter une série de ces expériences sur du blanc d'œuf émulsionné en proportion variable dans de l'eau simple ou de la solution de Ringer et y fait apparaître par l'adjonction progressive de $CaCl^2$ à 8 o/oo des formes de coagulation en flocons de neige. en étoile

de mer, en sphère à épine que ne donnaient ni le séjour à l'eau ordinaire ni l'adjonction de NaCl ou de KCl. On voit apparaître dans cette expérience très grossière un premier « symptôme » de l'effet « coagulant » du calcium. Mais l'explication exacte de l'action du calcium ne se trouve pas dans ce fait trop simpliste.

Dans une série de travaux plus récents Mines (1910-1912) put montrer que le calcium pouvait agir en *renversant les signes électriques* d'une solution colloïdale, provoquant ainsi, secondairement, des modifications de la capacité d'absorption, allant jusqu'à une sorte de dessication ou même de précipitation (coagulation) du colloïde par inversion des signes. Il est évident que cette modification structurale entraîne une diminution ou augmentation des phénomènes diastasiques liés le plus souvent à la constitution de surface de ces colloïdes (Bourquelot et Bridel, Warburg). Clowes en a donné récemment une démonstration extrêmement élégante (1915). Il a pu, en ajoutant progressivement du chlorure de calcium en très petite quantité à une suspension d'huile pure dans de l'eau distillée la transformer en une émulsion d'eau dans de l'huile. En décomposant à l'ultra-microscope la suite des phénomènes il a vu en présence de 0.005 parties de Ca la phase continue de l'huile se changer en pores allongées, puis en présence de 0.0075 parties de Ca les pores d'huile s'arrondir en gouttelettes rondes, tandis que les gouttelettes d'eau s'allongeaient en pores et finissaient par se rejoindre en phase continue contenant des gouttelettes d'huile en suspension en présence de 0.03 parties de Ca. Ainsi arrive-

t-on à changer progressivement de la « crème » en « beurre » ou inversement par la simple adjonction de calcium. Des expériences moins précises que nous avons tentées à la suite de celles de Clowes nous ont montré que le potassium n'arrive pas à empêcher nettement cette action du calcium. Dans une étude très remarquable parue en 1920, Neuschloss a montré que le calcium à un taux optimum diminue la tension superficielle de la lécithine en émulsion dans de la solution physiologique et que cet effet disparaît tant au-dessus qu'au-dessous de ce taux, qu'il trouve vers 7,5 o/oo, c'est-à-dire dans le voisinage de l'isotonie au même point où Clowes a pu situer l'équilibre de sa solution. Ces faits sont très importants parce qu'ils illustrent sur des schémas physiques des phénomènes biologiques observés dans des conditions plus complexes.

En vérifiant certaines recherches de Günzburg avec la solution de Ringer, Hamburger a montré (1922) qu'un excès de calcium d'environ 0.01 o/oo permet déjà d'obtenir une *contraction maximale des vaisseaux* et un arrêt circulatoire dans la jambe de grenouille perfusée avec du Ringer. L'adjonction de KCl supprime cet effet et ainsi de suite, montrant l'antagonisme des actions salines une fois de plus. Robertson a fait agir sur l'intestin d'une mouche une solution faible de NaCl (N/10) et obtenu ainsi des ondes péristaltiques qui se succédaient d'une façon rythmique et s'arrêtaient au rectum. En touchant légèrement l'intestin avec une solution décinormale de $CaCl^2$ il vit s'arrêter les ondes péristaltiques au niveau de la portion calciée et reparaître, en

temps normal c'est-à-dire après avoir parcouru invisiblement avec la même vitesse cette zone, à l'autre bout et se propager comme avant vers le rectum. Ici le calcium a rendu le tissu trop rigide pour transporter une onde élastique sans l'empêcher cependant de transporter avec le même rythme l'excitation contractile. Nous pourrions encore citer dans le même ordre de faits les recherches de O. Loew sur les plantes (1913) et les belles études de Osterhant sur l'antagonisme des sels dans la physiologie des végétaux. Mais nous retrouverons ces faits dans le chapitre suivant.

IIIe Chapitre — ACTION CYTOLOGIQUE DU CALCIUM

Si l'action générale du calcium sur les solutions colloïdales est facile à étudier sur des schémas physiques et dans des conditions déterminées, son *action sur la cellule vivante* est plus difficile à préciser parce que l'on se trouve en présence de réactifs particulièrement sensibles, qui peuvent succomber à la moindre exagération d'une dose nuisible. Les recherches ne peuvent être faites que sur des êtres unicellulaires dont l'activité vitale est moins complexe parce qu'elle répond à un milieu déterminé ou sur des globules sanguins chez lesquels cependant l'absence de noyau empêche une application générale des résultats obtenus. Nous croyons avoir ajouté un élément intéressant à ces recherches par l'étude de l'action du calcium sur la cellule et le tissu cancéreux qui ne représente qu'une agglomération plus ou moins indépendante de nombreuses cellules.

Les *recherches sur les êtres uni- ou paucicellulaires* en particulier sur les œufs de ces animaux, ont été inaugurées et poursuivies de la façon la plus méthodique et heureuse par J. Loeb et ses collaborateurs. Après avoir

montré que le calcium est capable d'arrêter les contractions rythmiques spontanées, que l'immersion dans une solution de NaCl provoque aussi bien chez le Gonionemus dans ces parties contractiles périphériques, que sur les muscles squelettiques ordinaires, il put montrer que le $CaCl^2$ était également capable d'empêcher la cytolyse par « évidement » que les œufs d'oursins subissaient dans le NaCl pur. Cet antagonisme n'est pas simplement un antagonisme de valeur selon les préceptes de la loi de Hardy, mais peut se retrouver dans des phénomènes qui permettent d'opposer le calcium au magnésium pour les œufs fécondés d'un autre oursin (Arbacia) ou pour les contractions rythmiques de la cloche du polyorchis. Meltzer et Auer ont pu retrouver cet antagonisme en étudiant la rapidité de l'apparition de la rigidité cadavérique chez les mammifères.

Les recherches sur le globule rouge sont dues à l'ingéniosité de Hamburger qui a voué à cette question presque toutes les expériences de sa longue carrière scientifique et a su amener au point actuel la question de l'isotonie et des électrolytes dans les liquides des organismes supérieurs. Le physiologiste néerlandais a pu d'abord établir la résistance du globule rouge vis-à-vis des solutions salines de taux variable et montrer quelles étaient les substances qui faisaient augmenter ou diminuer cette résistance. Après avoir démontré la différence entre les formes surtout physiques de l'hémolyse par hypotonicité et celles plutôt physico-chimiques de l'hémolyse par les liposolubles, (les saponines, les venins et sérums hémolytiques) qui détruisent la membrane cellu-

laire, il put mettre en évidence avec ses élèves, sur les 2 phénomènes l'action inhibitrice du calcium, vérifiée par d'autres auteurs, (Macallum, Hektoen). Ces faits sont d'autant plus intéressants que l'analyse comparative du plasma et des globules avait montré à Abderhalden une différence considérable entre la teneur en potassium très haute (5 o/oo) des globules et celle très faible (0,2 o/oo) du plasma, tandis qu'inversement les premiers ne contenaient pas de sodium du tout, bien qu'il se trouvât en une proportion de 4,4 o/oo dans le plasma. Ayant pu ainsi déterminer l'action du calcium sur la perméabilité du globule rouge, Hamburger s'attacha avec ses élèves à l'appliquer à d'autres cellules moins maniables et put faire cette démonstration avec Brinkmann pour l'épithélium de la capsule glomérulaire, pour la perméation de la cholestérine dans la vésicule et pour de nombreux phénomènes intestinaux. Höber (1912) a repris ces expériences, les a confirmées et y a ajouté un certain nombre d'observations expérimentales du même genre. Les faits étudiés par Siebeck sur la cellule rénale, par Lillie sur les larves d'Arenicola, par Fluri, Lepeschkin chez les plantes et surtout les expériences classiques de Osterhant permirent de généraliser les observations de Hamburger et de montrer qu'en plus de l'antagonisme des électrolytes on pouvait attribuer à certains d'entre eux une action bien spéciale, qui était par exemple pour le potassium celle d'une exagération irritative des phénomènes du métabolisme, pour le calcium celle d'une diminution par réduction des phénomènes d'échange.

L'idée d'appliquer ces faits à *l'étude des cellules can-*

céreuses n'est pas nouvelle, puisque dès 1904 Beebe avait pu montrer l'antagonisme qui existait entre le calcium et le potassium dans le cancer, le facteur K : Ca étant d'autant plus élevé que le tissu cancéreux était plus actif. Ces recherches confirmées d'abord par Clowes et Friesbie le furent en 1920 à nouveau par Watermann qui eut l'idée de poursuivre l'étude de ce phénomène par d'autres méthodes très intéressantes. En 1911 Borrel et son élève Nègre partant de l'idée de l'importance du terrain dans les greffes de tissus cancéreux de souris avaient pu établir d'une part une incompatibilité entre les tumeurs et les animaux porte-greffes habitués à des régimes salins différents, d'autre part l'influence défavorable surtout du barium sur le cancer et l'effet inverse du potassium. En 1918 Cramer (Londres) s'était servi du NaCl et du $CaCl^2$ pour étudier le mécanisme biochimique de la croissance et du cancer, sur des greffes de cancer mammaire de la souris. Il avait pu montrer que le séjour de tissu cancéreux pendant une ou deux heures dans des solutions isotoniques de NaCl et de $CaCl^2$ provoquait un ralentissement marqué pour les tissus calciés et un effet de retard minime pour les tissus sodés dans le développement de la greffe de ces tissus. De plus le calcium provoquait une perte d'eau et une condensation des cellules qui y étaient soumises, tandis que le sodium n'avait pas cet effet et pouvait même suspendre l'effet du calcium si on immergeait les cellules dans le sodium après les avoir fait baigner dans le calcium. Tous ces effets n'étaient que transitoires et n'intervenaient que passagèrement dans l'évolution générale de la greffe.

En 1921 nous reprîmes la question de l'action des sels sur la cellule cancéreuse en choisissant cependant le potassium et le calcium comme matériel d'étude pour serrer de plus près les phénomènes observés par Beebe, Clowes et Waterman.

Nous avons utilisé pour ces recherches un *épithélioma de la glande mammaire de la souris*; cette tumeur *Q*, apparue spontanément chez une souris femelle de 7 mois environ, progressait assez lentement. Une première série de greffes donna un pourcentage considérable de transplantations positives (90 o/o); la tumeur servit à la greffe successive de 23 séries présentant à partir de la 15e série un fléchissement prononcé, si bien qu'à l'heure actuelle la presque totalité des greffes se résorbe rapidement et ne donne qu'exceptionnellement des tumeurs importantes (7 à 12 o/o). La plupart des expériences qui font l'objet de ce travail ont été faites avant le moment du déclin de la tumeur *Q*. Celles qui ont été poursuivies plus tard ont porté sur d'autres tumeurs (*un épithélioma glandulaire atypique et un sarcome de la souris*) qui ont conduit à des résultats comparables.

La tumeur *Q*, du point de vue macroscopique, présentait l'aspect d'un tissu compact, solide et ferme, de teinte légèrement rosée, nettement lardacé par place, sans kyste, ni foyer d'hémorragie. Son accroissement se faisait avec une augmentation du simple au double dans l'espace de trois semaines pour finir par atteindre le volume d'une petite cerise.

Pour obtenir des résultats rigoureusement comparables, nous avons eu soin d'établir les conditions d'expé-

rience toujours identiques à elles-mêmes et qui sont les suivantes : fragment de 0,50 grammes de tumeur prélevée à la surface inférieure d'une tumeur de 3 à 5 semaines ; greffés à des souris jeunes de 6 à 8 semaines, si possible de même souche, élevées et nourries de la même façon ; greffés par la méthode de la boutonnière sur le dos, en poussant le fragment vers l'épaule droite. On obtient au bout de 7 à 10 jours une tumeur grosse comme une noisette, qui s'accroît pendant 3 à 5 semaines, pour atteindre le volume d'un pruneau et davantage, et tuer l'animal par cachexie ou infection secondaire vers la 10e à 14e semaine. (Troisier et Wolf).

Pour faciliter notre étude, nous avons séparé l'évolution de la greffe en trois phases bien distinctes : 1° la *phase de latence*, dans laquelle la tumeur entre en contact biologique avec le terrain porte-greffe, et les conditions humorales décident de la réussite de la greffe ; — 2° la *phase de croissance*, dans laquelle la tumeur s'est définitivement adaptée au milieu nouveau et prolifère à ses dépens ; — 3° la *phase de cachexie*, où la tumeur cesse d'augmenter de volume parce que l'animal ne peut plus lui fournir d'éléments et succombe plus ou moins rapidement par cachexie ou par infection intercurrente.

Au point de vue histologique, cette tumeur se présente sous l'aspect d'un *épithélioma atypique de la glande mammaire*. De larges plages épithéliales avec de rares orifices glandulaires envahissent un tissu conjonctif adulte, en général peu infiltré par des éléments inflammatoires. Les cellules sont polyédriques, avec un

noyau volumineux et arrondi, dans lequel on reconnaît un réseau chromatinien bien développé et un ou deux nucléoles souvent volumineux ; le cytoptasme est assez dense, fortement coloré et composé de grains homogènes. Nous n'avons pu y trouver de mitochondries en nombre appréciable. Les mitoses sont fréquentes, et pour la plupart de type régulier.

Un frottis de la tumeur fixée en vue de recherches cytologiques permet d'y reconnaître les détails suivants : les cellules sont de volume moyen variant de 3 à 4 μ de diamètre, avec un cytoplasme homogène nettement amphophile, avec un noyau volumineux plus ou moins vésiculeux et contenant le plus souvent un ou deux nucléoles. On rencontre d'assez nombreuses mitoses, du type normal le plus souvent. Les quelques mitoses anormales constatées revêtent un aspect en couronne ou en tonnelet ; rarement nous avons pu voir des mitoses pluripolaires avec dissociation nette des pôles astériques. Si l'on fait une numération approximative de ces mitoses, on arrive au chiffre d'environ 6—8 par champ microscopique.

Les mêmes cellules examinées en suspension dans l'eau physiologique (*NaCl* à 8 o/o) apparaissent sous l'aspect caractéristique de petites boules presque sphériques, dans lesquelles on distingue un certain « grouillement » protoplasmique peu réfringent, mais suffisamment opaque pour masquer presque complètement l'emplacement et les contours du noyau. C'est probablement pour cela qu'il nous a été impossible de retrouver une seule mitose au cours de plusieurs examens successifs,

alors que la présence de deux cellules plus petites, plus compactes, accolées en biscuits, laissaient supposer des phénomènes de division cellulaire que l'examen sur coupes colorées nous a permis de vérifier. L'examen à l'ultra-microscope pratiqué à peu d'intervalle du prélèvement, en particulier en milieu légèrement chauffé, (37° au plus), a montré nettement des mouvements amiboïdes, avec allongement et rétraction de pseudopodes.

Nous avons étudié l'effet cytologique, biochimique et biologique d'un séjour de tissu cancéreux de souris pendant 1 à 48 heures dans une solution de KCl à 7 o/oo et une solution de $CaCl^2$ à 8 o/oo et l'effet de l'inversion de ses milieux après un temps variable.

Nous avons pu constater que *le potassium* provoquait après *un séjour de 10 à 18 heures* un ramollissement notable et une homogénisation du tissu cancéreux. L'examen sur fond noir montrait une augmentation considérable du volume des cellules et un aspect « dilué » presque transparent du protoplasme avec élargissement des espaces intermicellaires qui permettait de reconnaître le noyau et parfois des modifications mitotiques. Les mouvements amiboïdes observés surtout après léger réchauffement de la lame étaient sensiblement analogues à ceux des cellules normales. L'examen de frottis colorés montrait des cellules avec un protoplasme très éosinophile et très homogène, un noyau de forme vésiculeuse avec un contenu chromatinien non modifié. La recherche histochimique montra l'intensité de l'imprégnation potassique par un précipité jaune orange très important de sodiumpotassiumcobaltonitrite. Chimiquement

l'enrichissement en potassium est notable, mais ne fait pas complètement disparaître le calcium que l'on retrouve tant par dosage direct que par l'imprégnation avec la technique de Macallum.

L'inoculation en greffe de ces tissus traités par le potassium donne des résultats positifs jusqu'au 3e jour. Dans ces greffes la phase d'accroissement de la tumeur jusqu'au volume d'une noisette environ, se trouve réduite de 7 à 10 jours (temps normal à 3 jours). Mais une fois atteint ce volume l'évolution ultérieure ne diffère plus de celle d'une greffe cancéreuse ordinaire.

Le *séjour* du tissu cancéreux *dans une solution de $CaCl^2$ à 8 o/oo* transforme en 6 à 8 heures le tissu cancéreux lardacé et compact en un tissu pâle, blanchâtre, homogène, de consistance sèche et friable. La friabilité et la densité des tissus augmentent encore les jours suivants et après 48 heures les petits fragments nageant dans le liquide d'immersion ont perdu tout caractère cellulaire. Sur fond noir les cellules semblent être devenues plus petites et s'être arrondies. Le cytoplasme est grenu et très fortement réfringent, avec des contours extérieurs parfaitement nets ; le noyau est absolument invisible. Les mouvents amiboïdes sont nuls, les cellules sont à peu près immobiles et il ne nous a pas été possible de provoquer, même par réchauffement de la lame, des déformations des contours cellulaires. Sur frottis colorés, les constatations ont été à peu près semblables. Les cellules contractées présentaient un protoplasme dense d'une coloration éosinophile assez sombre, parfois même amphophile. Le noyau également est plus dense que

normalement et très fortement chromophile. Son aspect arrondi se modifie peu à peu et prend un aspect irrégulier, soit lobé, soit fragmenté, soit avec disposition radiaire de la chromatine. Finalement vers le 3e jour on ne reconnaît plus aucun détail nucléaire avec les colorations les plus électives, les cellules sont mortes par pycnose nucléaire.

La recherche histochimique montre l'intensité de l'imprégnation calcique par des grains de précipité le plus souvent si volumineux qu'il est impossible de leur attribuer une localisation mono ou pluricellaire. Le dosage chimique montre une augmentation de la teneur en calcium qui atteint parfois 25 fois le taux du début. Le potassium reste à peu près dans les mêmes proportions d'un bout à l'autre de l'expérience. L'inoculation par greffe des tissus cancéreux traités par le calcium donne des résultats pendant les 2 premiers jours. La phase d'accroissement fixée à 7 à 10 jours dans des expériences de contrôle montre un allongement de plus en plus considérable et peut atteindre 3 semaines, pour aboutir finalement à l'avortement de la greffe par résorption.

Nous avons enfin étudié dans un petit nombre de cas *l'inversion des milieux* en transportant des tissus ayant baigné dans le $CaCl^2$, après lavage dans la solution de Ringer dans le KCl et inversement. Ces recherches exigent une minutie très grande qui ne met cependant pas toujours à l'abri de la contamination microbienne surtout quand les tissus sont déjà altérés par une immersion prolongée. L'immersion successive dans des solutions salines à action inverse lèse d'autre part très rapide-

ment les cellules, et après 48 heures d'un séjour total, elles ne donnent plus de phénomènes biologiques positifs, elles sont « mortes ». A part cette grande quantité de débris cellulaires qui apparaît déjà après 12 à 15 heures d'un bain « double », on constate en général des modifications semblables à celles obtenues par l'immersion directe, le calcium arrivant cependant plus vite à contrebalancer l'effet du potassium qu'inversement. Sur les frottis on trouve une grande quantité de débris cellulaires et parmi les cellules entières beaucoup présentent un aspect pâle, peu colorable, avec homogénisation plus ou moins totale de leur substance et chromophilie très diminuée du noyau. Sur fond noir, on constate un très grand nombre de cellules qui restent immobiles. Les recherches chimiques par imprégnation et par dosage donnent des résultats à peu près équivalents aux précédents, mais les chiffres de taux maxima restent en dessous des précédents. La greffe des tissus transvasés depuis 12 heures donnent une évolution à peu près normale dans les 2 cas, mais avec un pourcentage beaucoup plus faible : 35 o/o au lieu de 80 o/o après 12 heures, 2-3 o/o après 24 heures.

Ces recherches sur la cellule cancéreuse que nous avons brièvement résumées permettent d'envisager d'une façon plus générale l'*action cytologique du calcium*. Elles montrent que l'accumulation du calcium à un taux énorme qui atteint 25 fois le taux habituel n'empêche pas la survie cellulaire, mais ralentit progressivement les phénomènes vitaux. Ce ralentissement biologique s'explique par une contraction avec condensation du

protoplasme cellulaire et sa traduction première est une atténuation des phénomènes vitaux qui apparaît sous forme d'une rigidité et immobilité toute spéciale de la cellule avec rapprochement des particules micellaires. On ne pourrait distinguer cette cellule calciée immobile d'une cellule morte, si l'évolution de la greffe tumorale ne nous donnait pas un critérium biologique de premier ordre qui permet de trouver l'équivalent physiologique aux modifications morphologiques. Enfin cette action du calcium n'est que transitoire et il est fort probable qu'elle s'atténue par l'intervention de phénomènes actifs : échanges nutritifs, résorption, balancement osmotique qui remanient la tumeur une fois replacée dans le milieu vital de l'animal porte-greffe et dont le mécanisme exact nous échappe encore.

Notons enfin que l'effet antagoniste tant direct que sur la cellule cancéreuse apparaît particulièrement net dans les séries parallèles sur un tissu calcié et potassié. Il est probable que la plupart des phénomènes biologiques de la vie cellulaire subissent des altérations parallèles et inverses sous l'action de chacun de ces deux éléments et c'est ce qui nous permettra d'en déduire leur mode d'action.

IVe Chapitre. — ACTION TISSULAIRE DU CALCIUM

Comme sur les cellules isolées, le calcium est capable d'agir sur les tissus qui ne représentent en somme qu'un groupement de cellules du même type. Cependant chaque tissu ayant une fonction spécifique bien déterminée les effets des actions salines s'en trouvent déviées et n'apparaissent parfois, que sous une forme spéciale adéquate au fonctionnement particulier du tissu envisagé, mais en contradiction apparente avec les phénomènes simples observés sur les cellules isolées. Nous envisagerons dans ce chapitre quelques-unes des actions tissulaires les plus caractéristiques et essayerons de montrer que, dans ces cas, le calcium n'agit pas différemment que sur la cellule isolée.

Etant donnée la complexité des besoins des tissus chez les animaux supérieurs il n'est guère possible de les étudier en dehors de l'organisme sans avoir des résultats complètement différents de ceux dans l'organisme même et c'est la raison pour laquelle on ne s'est adressé dans ces expériences qu'au tissu nerveux et au tissu musculaire, objets d'études faciles par la traduction physique

de leur fonctionnement physiologique et la faculté par conséquent d'enregistrer graphiquement les résultats obtenus. Nous verrons cependant que certains tissus sont accessibles à l'expérimentation même sur le vivant et permettent ainsi d'élargir la conception du mécanisme biologique du calcium.

Le *muscle cardiaque*, en particulier celui de la grenouille, a été dès les premières recherches de Ringer l'objet-test sur lequel on étudiait l'action du calcium et cet auteur avait dans les expériences classiques qui sont à la base de toute la physiologie du calcium déjà pu noter une action tonifiante toute particulière du calcium sur le cœur. Cette action du calcium n'est remplaçable par aucun élément ni à des doses chimiquement équivalentes par des substances voisines, ni à des doses physiquement équivalentes par des substances à action agoniste semblable. Elle représente un des phénomènes les plus importants de la physiologie générale du Calcium et ceci d'autant plus que des recherches très nombreuses sont venues pleinement confirmer la constatation première de Ringer, (Langendorff et Hueck, Straub, Kraus, Kraus et Zondeck, Howell, Green, Busquet et Pachon, etc.,) pour les vétébrés et que Lovatt Evans (1912) a pu l'étendre aux invertébrés. Parmi ces expériences celles de Straub et de Kraus ont permis d'approfondir le mode d'action du calcium et de montrer qu'il doit s'agir d'actions de surface, de phénomènes se passant dans les couches les plus superficielles du muscle cardiaque. Et effet le remplacement brusque d'une solution de perfusion physiologique par une autre où manque le calcium, provoque

en 1/10 de seconde un changement du rythme des battements, et la restitution de la solution de Ringer rétablit le rythme normal aussi rapidement qu'il avait disparu auparavant.

L'étude de l'action cardiaque par l'analyse électrocardiographique montre particulièrement bien la tendance progressive du ventricule gauche à l'arrêt en systole, P disparaissant, S s'accentuant, T s'atténuant, et finalement l'arrêt en contraction maxima sans courant d'action. Ainsi le calcium provoque finalement un arrêt des phénomènes électrostatiques, parfois même un renversement de la direction précédente du courant. En agissant sur les colloïdes de surface, en augmentant la tension et la cohésion superficielle il diminue le potentiel d'adsorption électrique et la surface de polarisation et augmente la rigidité et la tonicité, par consolidation des couches superficielles. Il est évident que cette action sera d'autant plus nette que la réversibilité d'action sera plus facilement réalisée et le muscle cardiaque avec le renversement rythmique de son état de contraction représente l'objet idéal pour ce genre de recherches. A mesure qu'il perd en calcium ses battements diminuent d'amplitude et s'aplanissent et finalement ils ressemblent, comme l'ont montré Keith Lucas et Kahn, à ceux d'un muscle lisse, les médicaments cardio-toniques telle que la digitaline, n'agissent plus (Clark) et l'excitation du pneumogastrique n'a plus d'effet ou provoque des phénomènes inverses de la normale (Kraus).

Les mêmes effets que par l'absence de calcium peuvent être obtenus par le sodium et surtout par le potas-

sium (Gross, Bœhm). Kraus a montré qu'il n'existait pas un antagonisme absolument complet, mais les recherches de Zwaardemaker ont particulièrement contribué à éclairer cette question si complexe par la découverte de la radioactivité du potassium et des effets similaires par les radioéquivalents. Il peut paraître particulièrement intéressant de mettre en parallèle les recherches très semblables dans leur portée générale de Zwaardemaker sur le fonctionnement musculaire à Utrecht et de son collègue et compatriote Hamburger sur la perméabilité des membranes à Groningue, parce qu'elles montrent que l'étude d'un phénomène identique, l'antagonisme des sels, conduit l'un à une conception purement physique, l'autre à une conception physico-chimique de ce phénomène. Il semble d'ailleurs que ce soit cette dernière opinion qui se rapproche le plus de la réalité des faits.

Sur le *muscle de la grenouille* d'abord, des *vertébres* ensuite les mêmes constatations ont pu être faites que sur le muscle cardiaque. Entreprises d'abord par Nasse (1869), Locke (1897) et Zenneck (1899) ces recherches furent menées à bien par Loeb (1899 à 1901). Après avoir constaté que l'immersion des muscles dans des solutions de NaCl provoquait des secousses rythmiques supprimées par l'adjonction de petites quantités de calcium, il en conclut que les convulsions musculaires étaient dues à la perturbation du rapport normal Na : Ca dans le muscle, par diffusion de calcium dans la solution sodique. De même il fit la remarque que les sels dont l'action était la plus nette sur les secousses musculaires et l'hy-

persensibilité cutanée étaient précisément des précipitants du calcium. Si on immerge le muscle dans une solution de citrate, oxalate, fluorure, etc., de sodium et l'en retire pour le mettre à l'air ou dans une solution quelconque (sucre, gylcérine, huile) on constate une série de contractions tétaniques très violentes qui cessent dès qu'on replace le muscle dans la solution première. Si on laisse le muscle un certain temps à l'air ou dans la deuxième solution cette hyperexcitabilité disparaît pour ne reparaître que par une nouvelle immersion dans le premier liquide. Comme l'effet de l'immersion dans ce premier bain décalcifiant est instantané, il n'a pu porter que sur les couches les plus superficielles du muscle et Lœb attribue la disparition rapide de cette « irritabilité de contact » à la migration d'ions de calcium de l'intérieur vers la surface dans les couches décalcifiées. Il se produit ainsi un phénomène absolument comparable au phénomème vu par Straub pour le cœur de la grenouille, et la réponse musculaire varie simplement par suite de l'essence contractile du tissu.

Locke (1894) a pu observer des effets identiques sur la *membrane neuro-musculaire* ou membrane synaptique de Sherrington, puis Garrey montra que les décalcifiants agissaient de même sur les *nerfs périphériques* et la *moelle*, enfin Robertson en fit la démonstration pour le *bulbe*, et Maxwell pour la substance blanche du *cerveau*.

Ainsi l'*excitabilité musculaire, synaptique et nerveuse* se modifie suivant la présence ou non de calcium, qui là encore manifeste son action tonifiante, consolidante, donc inhibitrice sur l'excitation contractante et la con-

traction elle-même, au point à faire disparaître les phénomènes électriques qui accompagnent toujours les mouvements musculaires. Le calcium agit donc en même temps sur les phénomènes de perméation chimique et électrique et son action concorde absolument avec celle que nous avons constatée précédemment. L'augmentation de la perméabilité superficielle des nerfs et muscles en activité (Mines, Mac Donald, Keith Lucas), les modifications de la chronaxie sous l'influence du calcium observées par le Prof. et Mme Lapique montrent une fois de plus les corrélations des phénomènes physiques et physico-chimiques dans les faits observés et l'action du calcium sur les 2 phénomènes.

Si cependant la plupart des effets du calcium relatés jusqu'à présent est réalisée par l'ion calcium il en est d'autres dans lesquels intervient peut-être l'atome calcium et l'effet devient alors complètement différent ; il n'est pas de meilleur tissu pour montrer côte à côte ces 2 modes d'action que le tissu conjonctif et ses dérivés. Dans la plupart de ses effets le calcium agit par une liaison très lâche, peut-être adsorption simple avec le tissu organique en présence, sous forme d'ions-protéïdes (Loeb) ou peut-être « d'ions-lipoïdes » dans certains cas. C'est ce qui lui permet de se déplacer facilement et de se fixer de même. Loeb suppose que cette fixation quantitative du calcium sur les tissus vivants ne dépend que de la nuance chimique, du P_H du milieu, mais des recherches très récentes de Freudenberg et György (1922), que l'on ne peut encore accepter que sous réserve de confirmation, semblent attribuer un rôle plus important

à la qualité des anions en présence dans les tissus et ce fait a son importance. Il apparaît en effet de la sorte que certains anions, comme les acétates par exemple fixent le calcium plutôt à la phase liquide qu'à la phase solide, que d'autres comme les phosphates ne se combinent à lui que sous une forme non diffusible. La solidité de la liaison et la qualité biologique du tissu en dépendent en grande partie. Kühne a montré que les albumines entraînent le $Ca^2 (PO^4)^3$ et que la composition colloïdale du plasma sanguin maintient en suspension les phosphates, savons de calcium et combinaisons lipoïdiques, insolubles cependant dans l'eau. De même la constitution du plasma empêche l'action de nombreuses substances précipitant le calcium et c'est ce qui explique son transport et sa présence dans le sang circulant sous forme de sels, d'ionprotéïdes ou de simples adsorptions (Hofmeister).

Les expériences de Freudenberg et György semblent démontrer que la présence de phophates favorise la fixation du calcium, mais comme les phosphates n'existent pas partout là où le calcium arrive à se fixer (Botazzi) il est possible que d'autres éléments interviennent comme par exemple la libération d'ammoniaque, remplacé ensuite par le calcium. Tous ces faits cependant tels qu'ils ont été étudiés surtout par Recklinghausen, Hofmeister, Spiro, Lindemann et Pfaundler n'expliquent que très imparfaitement la précipitation du calcium dans les tissus conjonctifs.

Le *sang* contient entre 0.0109 et 0.0186 o/o de calcium (Hofmeister) et ce chiffre excède assez notablement la

solubilité du calcium dans le sang ; il existe donc un certain rapport entre la quantité de calcium et le degré de son état colloïdal que Röhmann considère comme la « tension calcaire » du sang. Si cette tension baisse aucun sel calcaire n'est plus incorporé par les cellules endothéliales des capillaires. Ce sont ces cellules qui d'après les recherches de Werner absorbent normalement la chaux colloïdale et la transforment en combinaison phosphorée également colloïdale, l' « apatite ». Reprise des cellules endothéliales par les ostéoblastes adjacents l'apatite passe par leur intermédiaire dans le tissu fondamental de la substance osseuse et imprègne l'osséine à la façon d'un mordançage, qui se prend secondairement comme un ciment. De ce fait l'ossification apparaît comme une véritable mise en réserve de tout le calcium colloïdal en excès.

Dans des expériences avec Tanaka (1911-1912) Hofmeister a montré que du sérum saturé de CO^2 pouvait solubiliser en 24 heures à 37° — 40° sur une surface osseuse de 1 mètre carré, 1 gr. de calcium. Si l'on considère l'étendue véritable de la surface osseuse on conçoit quelle peut être l'importance de ce phénomène dans l'organisme et on peut y voir un des régulateurs physiologiques de la teneur en calcium des os. Mais à côté de ce processus purement chimique il faut en placer un second d'ordre histologique. Par ses ferments tryptiques la cellule ostéoblastique est capable de détruire la charpente organique sur laquelle s'était imprégnée naguère l'apatite et le calcium redevient libre, mais très probablement sous une forme cristalline. Il semble en effet qu'une fois

fixé dans la substance osseuse le calcium reprenne sa forme saline et c'est ce qui explique la réaction de cellule géante qu'il provoque une fois mis en liberté, tout comme les autres substances minérales et mêmes organiques (cholestérine) qui apparaissent dans un tissu conjonctif sous la forme cristalline.

Nous avons pu vérifier ce fait, encore nié par certains histologistes, en étudiant comparativement le tophus uratique, le choléstéatome, les calcifications et l'effet des injections de corps inertes sous la peau. Il existe une étude très détaillée du tophus par Sicard et Moutier, tandis que les choléstéatomes ont fait l'objet d'un travail remarquable de G. Roussy (1912). Les calcifications ont été étudiées par de nombreux auteurs, mais nous ne retiendrons que les expériences et recherches anatomopathologiques de Thibierge et Weissenbach (1913). Ces auteurs ont trouvé tous les intermédiaires entre l'imprégnation scléreuse du tissu conjonctif soumise en évidence de sels calciques et l'apparition microscopique ou macroscopique de calcifications après injections de sels de chaux au cobaye. Toujours ils ont noté la présence de cellules géantes au pourtour des cristaux calcaires, comme Roussy a pu les signaler au pourtour des aiguilles de cholestérine et Sicard et Moutier et nous-même avec M. le Pr Chauffard au pourtour des imprégnations cristallines uratiques.

Des recherches personnelles avec L. Giet sur les phénomènes de résorption calcaire dans l'ostéomyélite nous ont permis de retrouver les mêmes cellules chargées des mêmes matériaux cristallisés et nous croyons pouvoir en

conclure que la forme cristalline du calcium s'accompagne, même dans la résorption de l'os normal d'une réaction gigantocellulaire toujours du même type.

De ce fait il apparaît que l'imprégnation calcaire du tissu conjonctif peut se faire de deux façons, suivant le *mode colloïdal* alors il s'agit d'ossification, et suivant le *mode cristallin* alors il s'agit de calcification. On peut considérer qu'il y a entre l'ossification et la calcification la même différence qu'entre le tissu conjonctif cellulaire et le tissu conjonctif fibrillaire ou lamellaire, c'est-à-dire entre le tissu vivant et le tissu non vivant. Dans l'ossification le calcium reste à l'état de réserve assimilable et il est repris par le sang en cas de besoin ; Hofmeister a même montré qu'il n'existe aucune différence pour l'utilisation entre le calcium assimilé par voie intestinale et celui dégagé par solubilisation de la réserve osseuse au moyen du CO^2. Au contraire le calcium précipité dans les calcifications s'y trouve à l'état de dépôt fixe sans rapport avec les vaisseaux et le seul moyen de s'en débarrasser est un moyen réactionnel cellulaire, qui prend le type gigantocellulaire à cause du caractère cristallin de la matière à attaquer et à transporter. Mais si dans le premier cas la *résorption plasmatique* fait réapparaître un tissu conjonctif jeune et cellulaire, dans le deuxième cas la *résorption gigantocellulaire* ne laisse qu'un tissu scléreux, cicatriciel et lamellaire. Il est possible que dans les phénomènes pathologiques qui bouleversent la structure osseuse normale les deux processus interviennent d'une façon très inégale.

La variation modelante de Hunter qui remanie à tout moment la structure architecturale de l'os normal se fait suivant le type gigantocellulaire cristallin et il semble qu'elle soit précédée d'une modification de la charpente conjonctive à cet endroit. La résorption plasmatique colloïdale se fait sur une échelle beaucoup plus étendue, mais nous n'en connaissons pas encore le mécanisme physiologique au complet. On est en droit de supposer d'après les travaux récents que le rachitisme, l'ostéomalacie et l'ostéoporose sont plus des maladies du tissu conjonctif à imprégnation calcique que des maladies du métabolisme calcaire et c'est ce qui explique l'inefficacité de l'ingestion purement calcique et même phosphocalcique dans leur traitement.

Après ce qui précède nous ne croyons pas devoir nous appesantir sur les phénomènes de calcification banaux, tels qu'ils se réalisent spontanément dans les tissus nécrobiotiques et le cartilage. L'influence de tissu nécrotique sur le développement du tissu conjonctif du voisinage est bien connue, elle a été particulièrement bien étudiée dans les greffes cancéreuses récemment par Caspari. Nageotte a insisté dans son admirable livre sur les interactions tissulaires dont le type envisagé par nous ne représente qu'une forme particulière. Hofmeister a montré que cette calcification nécrotique était la conséquence obligatoire de la mise en liberté de certains acides et sels et Frerdenberg et György ont pu récemment confirmer cette opinion : il s'agit de phénomènes purement chimiques dans lesquels le calcium n'intervient plus sous la forme d'ion.

V^e^ Chapitre. — ACTION DU CALCIUM SUR L'ORGANISME

Ayant étudié les actions partielles cytologiques et tissulaire du calcium il nous a paru intéressant d'y adjoindre une courte revue de l'action générale du calcium sur l'organisme qui nous permettrait de vérifier le mode d'action de l'élément dans des phénomènes beaucoup plus complexes que ceux envisagés antérieurement. Nous verrons d'abord quelle est la teneur en calcium du milieu sanguin à l'état normal, dans quelles conditions elle semble varier et quel est l'effet d'une modification brusque ou lente du taux normal.

Les recherches sur la *quantité normale* de calcium *dans le sang* ne sont pas très nombreuses. Les chiffres donnés oscillent entre 0.079 o/o et 0.150 o/o (Alderhalden, Kossa, Jansen). Des recherches d'auteurs américains en particulier dans le rachitisme viennent récemment de confirmer ces chiffres et de montrer que dans cette maladie il peut y avoir parfois une diminution jusqu'à 0.050 o/o. Dans des recherches entreprises pour d'autres motifs Brinkmann, Billigheime Freudenberg, Geussen-

haimer ont relevé des chiffres semblables variant surtout entre 0.085 et 0.150 o/o. Nous-même avons entrepris une longue série de recherches sur le teneur du calcium dans les états pathologiques les plus divers en collaboration avec I. Gerbey et nous avons trouvé des chiffres allant de 0.094 o/o à 0.149 o/o. En faisant le tri de nos malades nous avons pu constater que les chiffres les plus bas se retrouvaient chez les cardiaques avec ou sans œdèmes phériphériques, tandis que les chiffres les plus élevés se rencontraient chez les goutteux uricémiques. La néphrite ne semble pas modifier le taux moyen dans un sens bien net et les lésions hépatiques accusent aussi bien une calcémie forte qu'une calcémie faible. Indépendamment de ces recherches, dont les conclusions n'entrent pas dans le cadre de ce sujet, nous avons pu constater que chez le même malade le sang pris dans des conditions identiques peut présenter une variation de taux qui varie de 10 mg et même plus à plusieurs jours d'intervalle. La répartition du calcium ne se fait pas non plus d'une façon absolument égale entre les humeurs et le sang et nous avons pu constater une augmentation de la teneur en calcium du liquide céphalo-rachidien vis-à-vis du sang et au contraire une diminution souvent très notable dans les collections pathologiques, ascite et pleurite. Nous n'avons pas pu non plus observer de modifications appréciables dans la tuberculose pulmonaire à évolution ulcéreuse qui restait dans les chiffres normaux faibles (0.122 o/o), tandis que le cancer oscillait dans les chiffres normaux fort (0.141 o/o.) Waterman dans des recherches sur des sérums de

cancéreux n'avait pas pu observer de différences notables de la teneur en calcium du sang cancéreux vis-à-vis de sérums normaux.

Cette valeur à peu près fixe du calcium sanguin ne peut pas nous étonner après les constatations sur l'état d'équilibre du milieu sanguin, sur lesquelles nous avons insisté au début. Dans des recherches très minutieuses Rona et Takahahasi avaient déjà déterminé en 1913 la solubilité du calcium dans le sérum par rapport à la concentration en ions H et en bicarbonates. Ils avaient pu établir qu'il existait une certaine quantité de calcium diffusible sous forme de phosphates ou d'hydrocarbonates et que la quantité de ce calcium diffusible, variait suivant la formule $Ca = k \frac{H}{HCO3'}$, k étant constant et égal à 350. Le reste du calcium présent dans le sang échappe à ce rapport par sa combinaison avec les protéïques, et n'est pas non plus diffusible. On retrouve là, sous une forme plus mathématique la conception du calcium colloïdal et ionisé et on peut considérer que la « tension » normale du calcium dans le sang n'en libère que la 5e partie sous une forme active. C'est-à-dire que la quantité active de notre calcium total représente dans des conditions des plus favorables environ 1,30 à 1,50 gr. de calcium. On peut en déduire que l'apport de calcium étranger sous une forme active doit être capable d'entraîner des modifications très importantes.

Cet apport peut être alimentaire ou intraveineux et c'est surtout la 2e voie qui permet de constater rapidement des effets nets. C'est ce qui ressort notamment des

recherches que M. le Prof. Blum a entreprises avec ses collaborateurs pour étudier le mécanisme de la diurèse.

En étudiant l'action de l'*injection intraveineuse* de $CaCl^2$ (50 ccm d'une solution à 50 o/oo ce qui fait 2 gr.50 de $CaCl^2$) il a pu constater avec R. Lévy une concentration immédiate du sang avec augmentation du taux des chlorures et effet diurétique au moment de la concentration maxima du sérum sanguin ; avec R. Löwenberg il a pu constater que les doses de calcium trop faibles pour provoquer une diurèse déterminaient non pas une concentration, mais une dilution du sang. Ces observations concordent absolument avec des expériences de Neuschloss, de Rosenmann, de György qui ont également trouvé des effets inverses du calcium, et même du potassium dans certains cas, suivant l'emploi de doses au dessus ou au dessous de la dose optima ou dose physiologique. Ces effets inverses s'expliquent relativement facilement. On peut considérer en effet que la capacité de solubilisation de calcium n'est pas à son maximum dans le sang normal et permet par conséquent encore une augmentation jusqu'à la limite de la tension du calcium ; une fois cette limite dépassée le calcium est immédiatement éliminé. On peut supposer que les choses se passent suivant la formule : $3\ CaCl^2 + 2\ Na^2 HPO^4 = Ca\ (PO^4)^2 + 2\ NaCl + HCl$. La libération de chlorure de sodium en excès entraîne une dilution compensatrice du sérum, aussi longtemps que le $Ca^3\ (PO^4)^2$ reste en suspension. Dès que le phosphate tri-calcique est précipité, tout change par suite de l'effet du calcium

sur la paroi vasculaire et les échanges d'eau entre les tissus et le sang s'arrêtent brusquement.

Le mérite d'avoir nettement montré l'*effet* du calcium *sur l'endolhélium vasculaire* revient en 1re ligne à Hamburger, qui tout récemment put parfaire ainsi toute la série de recherches qui vont de Severini (1876), par Gaskell (1880), Hoocker (1911), Mathison (1911), Schwarz et Lemberger (1911) jusqu'à Mines (1912), Dale (1912), Asher (1913) et Barcroft (1914). Il put démontrer par des expériences de perfusion sur la patte de grenouille que le calcium provoquait une étanchéité exagérée et une contraction des vaisseaux capillaires. Ce fait est probablement à la base, en partie du moins, de certains phénomènes biologiques déjà plus anciens, mais que les recherches récentes du Prof. Blum ont particulièrement remis en valeur.

En 1910 R. Chiari avait constaté en collaboration avec Januschke que l'injection intraveineuse de iodure de sodium provoquait chez le chien des *épanchements pleuraux et péricardiques* et que l'animal succombait souvent à une crise d'œdème pulmonaire aigu. Si on injecte à temps du chlorure de calcium les cavités séreuses restent vides et l'animal en bonne santé. De même ces auteurs purent empêcher par l'injection sous-cutanée ou intraveineuse de $CaCl^2$ la formation d'hyperémie, œdème et suppuration des conjonctives par l'instillation d'essence de moutarde ou d'abrine dans le sac conjonctival. Blum (1919-1921) a repris ces expériences et a eu le grand mérite d'en trouver l'application en clinique montrant ainsi les indications thérapeutiques de l'action

antiphlogistique du calcium, surtout dans les pleurésies.

Nous-même avons pu vérifier ses expériences sur la souris. Nous avons provoqué avec des souches de pneumocoques éprouvées, des septicémies chez la souris et avons étudié comparativement l'évolution de la maladie chez des animaux soumis à l'ingestion (pain trempé) ou à l'injection de solutions faibles de calcium et de potassium. Dans une série qui a porté sur 8 souris dont 4 de chaque catégorie nous avons observé une moyenne de 51 heures pour les animaux calciés et une moyenne de 39 heures pour les animaux potassiés contre 41, 5 heures de temps moyen pour la mort des témoins (3). Par contre l'inhalation de tétrachloréthane, qui provoque la narcose en 1 1/2 heures chez les animaux témoins n'a pas agi différemment chez les animaux traités comme précédemment. L'étude des altérations parenchymateuses et conjonctivo-vasculaires ne nous a pas non plus révélé de différences notables. On retrouve les mêmes formes dégénératives, hypertrophiques et atrophiques dans le parenchyme épithélial et les mêmes proliférations lymphocytaires et néovasculaires dans la trame interstitielle. Dans ces cas la modification du terrain par l'ingestion de calcium ne semble donc pas avoir un effet aussi marqué que dans le cas précédent.

Mais si le calcium est capable dans certains cas d'éteindre des inflammations, dans d'autres de tarir des épanchements il s'est montré du même coup dans les recherches récentes de M. le Professeur Blum doué de propriétés diurétiques très importantes. Cette *diurèse* est réalisée

surtout dans les œdèmes brightiques de la néphrite hydropigène où les résultats dépassent parfois ceux de tous les autres diurétiques, comme l'ont montré certains cas publiés par le Prof. Blum (Strasbourg). Cependant si cette action est nette dans les œdèmes chimiques des maladies rénales, elle est bien moins évidente dans les épanchements ascitiques et presque nulle, parfois nuisible, dans les œdèmes d'origine cardiaque. Blum a montré que pour la réalisation de l'action du calcium, il faut obéir à deux conditions : supprimer l'apport de sodium, ingérer de fortes doses de calcium. Reprenant à leur base les travaux classiques de Widal sur les cures de déchloruration, il montre que l'élément agissant n'est pas seulement le anion chlore, mais le cation sodium, et c'est à cette action du sodium que s'oppose l'action du calcium, dont l'antagonisme biologique reconnu depuis longtemps a été transporté et appliqué dans toute son ampleur sur le terrain clinique.

Du même fait, des observations beaucoup plus anciennes et restées ignorées trouvaient leur explication toute naturelle. Bosc et Vedel avaient constaté en 1896 que l'injection de grandes quantités de NaCl de 0.5 à 0.7 0/0 provoquait chez les chiens et chez le lapin un « véritable accès de fièvre ». Ces expériences furent confirmées par Burnett et en 1898 Fornaro et Micheli obtenaient les mêmes résultats par l'injection sous-cutanée de sérum physiologique (NaCl à 7. 5 0/00), puis Schaps (1906) et Gofferje (1908). Meyer, seul et avec Rietschel, reprit ces expériences chez le nourrisson et put constater la diminution et la suppression du « Kochsalzfieber »

par l'adjonction de potassium et de calcium dans des proportions correspondantes à celles de la solution de Ringer ; cependant ces expériences confirmées quelque temps après par Schloss (1909) retombèrent ensuite dans l'oubli. Certaines conditions gustatives et la difficulté d'obtenir des sels de calcium purs avaient entravé la généralisation de son emploi.

Mais déjà dans ses expériences Meyer avait noté une *action* favorable du calcium *sur les œdèmes* interstitiels et ce fait repris par Porges et Pribram sur le terrain expérimental avait donné lieu à de nombreux essais cliniques dans la thérapeutique des œdèmes brightiques. On trouvera un excellent résumé et une discussion de ces faits dans les travaux récents du professeur Blum sur la question (*Journal Médical Français*, juin 1922) et notamment la démonstration des erreurs de technique qui avaient arrêté les auteurs précédents. Qu'il nous suffise de signaler que nous-même dans la clinique du professeur Chauffard avons obtenu des résultats très nets dans les œdèmes brightiques, moins évidents dans les épanchements pleurétiques, tandis que le médicament n'avait pas prise sur les épanchements ascitiques des cirrhoses, ni sur les hydropisies cardiaques. Si on appliquait après ponction évacuatrice préalable de l'épanchement la médication calcique on obtenait une suspension ou au moins un ralentissement considérable de l'accroissement de l'épanchement et cet effet était beaucoup plus marqué que dans la déchloruration simple sur laquelle le professeur Widal avait insisté en 1903. On peut donc nettement constater une part

active, un effet direct du calcium sur le mécanisme duquel nous avons à revenir.

Certains *effets immédiats* de l'injection intraveineuse du calcium également constatés dans les dernières années restent d'une interprétation plus difficile et plus controversée. En 1920 Rist, Ameuille et Ravina signalaient l'action suspensive presque immédiate et au plus tard en 24 heures, dans les cas favorables, de l'injection du calcium à fortes doses (0,50 à 1 gr. de $CaCl^2$ en 1 ccm d'eau) très concentrées dans les *diarrhées des tuberculeux*. Cette observation put être confirmée par une série d'auteurs et nous même avons eu à de nombreuses reprises l'occasion de la vérifier sur des malades du pavillon de tuberculeux de la clinique. L'action n'est pas toujours obtenue, même par une deuxième injection dans les 24 ou 48 heures et pour notre part il nous a semblé qu'un tiers seulement des malades en obtenaient un soulagement immédiat et complet. En vérifiant, notamment par les rayons X, dans de rares cas par la recherche et trouvaille des bacilles de Koch la nature étiologique de ces diarrhées des tuberculeux nous pûmes observer que les entéritiques par hyperpéristaltisme intestinal étaient les seuls qui répondaient bien au traitement calcique et ceux-là seulement dans une proportion légèrement supérieure à la moitié de tous les cas. Il semble par conséquent que le calcium n'agit que sur les cas d'entérite tuberculeuse d'origine toxique par un mécanisme encore indéterminé. Des faits corrollaires observés surtout par des auteurs américains et qui ont trait à l'action purgative des sels précipitant le calcium vien-

nent s'ajouter aux précédents et les corroborer pleinement.

Loeb avait pu montrer en 1902 que les sels qui provoquaient l'« irritabilité de contact » sur le muscle et le nerf étaient tous en même temps des purgatifs très efficaces et avait émis l'hypothèse que l'effet purgatif était surtout obtenu par l'hyperexcitation du tube musculaire intestinal. Cette opinion en désaccord avec la théorie classique de Schmiedeberg pour lequel l'action s'expliquait du fait de l'arrêt de la résorption aqueuse par la paroi intestinale, fut adoptée et vérifiée par I. B. Macallum, puis par Bancroft, Hertz, Crook et Schlesinger. Si l'opinion de Loeb était exacte, *l'effet des purgatifs* était nécessairement le même par injection sous-cutanée ou intraveineuse que par ingestion par la bouche et l'expérience sur le lapin permit de vérifier l'efficacité du sulfate, citrate, fluorure de sodium par cette voie, de même que par le badigeonnage de la surface péritonéale de l'intestin. La démonstration du bien fondé des idées de Loeb était donc faite et il manquait la contre-épreuve par l'injection ou le badigeonnage au $CaCl^2$, qui elle aussi donna un résultat escompté. Macallum avait constaté en même temps qu'il n'y avait pas seulement rétention d'eau intra-intestinale, mais de plus secrétion active de liquide vers la cavité intestinale. Ces faits ne furent cependant pas acceptés d'emblée et une longue discussion s'engagea entre les auteurs américains sur l'exactitude des résultats obtenus par Macallum. Les observations de Hertz et Schlesinger qui sont les dernières en date dans ce long débat semblent avoir

confirmé l'opinion de Loeb et de Macallum. Par l'ingestion simultanée de bouillie bismuthique et de sels purgatifs chez l'homme, ils purent constater que l'effet purgatif était obtenu parfois 3 heures avant l'arrivée de la bouillie au niveau du gros intestin. L'eau pure ne progresse pas beaucoup plus vite que le bismuth de sorte que l'objection d'une migration accélérée de la solution saline jusqu'à l'endroit de son action ne semble guère soutenable, d'autant plus que l'analyse du chyme intestinal chez un malade atteint d'une fistule de l'iléon à 30 cm. du cœcum et ayant absorbé en même temps purgatifs et bismuth, montra l'arrivée simultanée des deux ingesta au niveau de la fistule. Enfin l'analyse comparative des selles et des urines avant et après purgation permit de constater une élimination intestinale d'eau bien antérieure à l'excrétion du purgatif et une apparition beaucoup plus rapide des sels actifs dans les urines, de sorte que, par ce procédé également, l'action des purgatifs par la voie sanguine et non par la voie intestinale directe semble très probable ainsi que le mécanisme d'action par précipitation du calcium.

Si l'action du calcium sur les diarrhées toxiniques profuses semble donc peu à peu trouver son explication physiologique, il n'est pas de même pour un autre effet immédiat du calcium, celui de l'injection intraveineuse à fortes doses sur les *vomissements des tuberculeux*. Signalé également par Rist et Ameuille, confirmé également par un certain nombre d'auteurs ce fait reste encore obscur dans son mécanisme. Nous avons pu constater sur quelques malades l'effet véritablement

bienfaisant de cette médication et il nous a semblé qu'elle agissait plus sur le système nerveux en général que sur la cause locale. En effet le malade présente en même temps qu'un arrêt de ses vomissements et parfois même de la toux émétisante, nettement une amélioration des phénomènes thermiques et sudoraux qui impriment à l'intoxication tuberculinique son cachet si spécial.

D'ailleurs le vomissement est lui-même un phénomène réflexe du territoire du pneumogastrique sur l'origine et le mécanisme duquel les physiologistes n'ont jamais entièrement pu se mettre d'accord.

Cette *action du calcium sur un phénomène* d'ordre surtout *nerveux* n'est d'ailleurs pas unique. Richet, St-Girons et Brodin, Kopaczewski, Sicard et Paraf ont montré que l'injection de cristalloïdes empêchait la réalisation du choc anaphylactique. Mais à côté du grand choc dramatique il existe des petits chocs locaux, comme ceux qu'ont étudiés Bouché et Hustin, et qui se traduisent par des éruptions cutanées et dermatoses de types divers dont l'urticaire et certains eczémas sont des expressions chimiques bien connues. La prophylaxie de ces petits chocs est la même que celle des grands. Une fois réalisés on peut les combattre par l'adrénaline, par l'atropine et aussi par le calcium et on obtient ainsi de très bons résultats dans certains cas. D'après une communication orale M. le Prof. Blum a eu l'occasion il y a déja longtemps d'étudier l'action du calcium intraveineux sur ces phénomènes d'ordre vasomoteur, mais n'en avait obtenu qu'un effet médiocre. Nous avons pu contrôler

sur plusieurs malades l'efficacité d'une injection intraveineuse de $CaCl^2$ à 50 o/o (1/2 ccm) et avons obtenu dans des cas d'urticaire géant, de maladie sérique, de phénomènes anaphylactoïdes de type spécial des améliorations très nettes avec pâlissement de la peau et effacement de l'exanthème dans les 24 heures, mais ses effets ne sont pas constants ni égaux. M.Weill-Hallé a rapporté des faits semblables très récemment à la Société médicale des Hôpitaux de Paris. Même n'agissant qu'irrégulièrement ce mode d'administration met l'organisme en présence d'une quantité de calcium brusquement très élevée et il faut se demander si la réaction qui répond à cette irruption est d'ordre physique, chimique ou nerveux.

Rappelons enfin pour terminer ce chapitre l'action particulièrement favorable et rapide de l'injection intraveineuse de calcium, sous une forme soluble, *sur les secousses convulsives* du chien parathyréoïdectomisé, comme l'ont montré W. G. Macalum et Voegtlin (1908) puis Erdheim. L'analyse a montré chez ses animaux une diminution parfois de moitié du taux de calcium dans le sang et le cerveau vis-à-vis des animaux témoins et ces faits se rapprochent des expériences de Loeb sur l'irritabilité de contact, tant dans leur genèse par décalcification que dans leur thérapeutique par apport de calcium ; la tétanie et les nombreux états spasmophiliques (Rohmer, Von der Weidt) font également partie du même groupe d'affections calciprives et la facilité avec laquelle le nourrisson et le jeune enfant répondent à des excitations encéphalomédullaires par des convul-

sions s'explique peut-être en partie par le peu de calcium qui est à leur disposition, par leur tension faible en calcium sanguin. Il semble en effet si l'on compare les dosages sanguins chez des jeunes et chez des adultes qu'il y ait une moyenne légèrement inférieure chez les premiers que chez les seconds. Mais comme les dosages comparés ne sont pas faits par les mêmes auteurs, des différences de technique peuvent aussi bien expliquer les divergences très légères qu'on relève et nous ne formulerons cette constatation que sous toutes réserves d'une vérification, que nous n'avons pu faire nous-même faute de disposer de sujets assez jeunes (1).

---

(1) Signalons que des recherches actuellement en cours sur l'ionisation calcique semblent confirmer ces notions encore peu répandues.

SYNTHÈSE

Il nous reste à jeter un coup d'œil d'ensemble sur les différents modes d'action du Calcium, de voir par quoi elles se ressemblent et comment on peut en inférer certains éléments susceptibles d'éclairer le mécanisme d'action du calcium.

Du *point de vue cellulaire* et *tissulaire* pur on constate que le calcium se fixe facilement et l'avidité calcique des cellules semble d'autant plus importante qu'elles sont moins riches en calcium ou plus jeunes, faits qui coïncident bien souvent, particulièrement dans le cancer. La forme de la combinaison du calcium avec les éléments cellulaires n'est pas encore élucidée. Deux grandes théories s'opposent à ce point de vue. La *théorie* purement *physique de Mattews* suppose une liaison purement électrique des ions avec les micelles colloïdales, proportionne l'effet ionique à la facilité avec laquelle l'ion dégage son électricité et mesure même en unités π l'effet excitant d'un sel. Cette théorie ne suppose qu'un mode d'action des ions qui peut être négatif comme pour le calcium ou positif comme pour le sodium, ou le

potassium qui aurait un π particulièrement élevé. Dans un ordre d'idées un peu semblable, mais moins absolu Zwaardemaker a pu établir nettement et avec une précision mathématique que pour certaines substances leur effet excitant s'expliquait par leur effet radioactif et il est tout naturel que ce soit ce point de vue qu'il ait placé à la base de sa discussion récente des actions salines. Mais on est immédiatement frappé par le fait que le calcium n'intervient pas dans la radioactivité, ni dans un sens ni dans l'autre et l'on peut admettre que le point de vue de Zwaardemaker n'a donc pas une portée générale, et n'englobe pas le calcium.

A ces conceptions d'ordre physique s'opposent les théories de Loeb qui adopte un point de vue mixte physicochimique et suppose que les ions entrent en liaisons instables, mobiles avec les protéïnes et que ces liaisons subissent des déplacements et remplacements constants ; c'est la fameuse *théorie des « ionprotéïdes »*, qui est la plus généralement admise à l'heure actuelle. Robertson a voulu donner à cette théorie un caractère plus étroitement chimique en faisant intervenir la loi des masses et des proportions de concentration, dont Oswaldt a surtout montré l'importance en matière de chimie générale, mais aucun biologiste ne l'a suivi dans cette voie.

Ces 2 théories sont basées sur la nature dissociée, électrolytique et ionique des éléments et on peut en conclure que l'action biologique du calcium est toujours une action ionique. Cette action ionique est double : mécanique ou de masse et électrique ou de potentiel, et les variations de ces deux facteurs engendrent deux séries

principales d'actions des ionprotéïdes : une action osmotique et une action de polarisation. Toutes deux supposent des phénomènes liminaires et ne sont donc possibles qu'en présence de surfaces qui s'affrontent ou de membranes qui les séparent. Les actions ioniques sont donc des actions de couches de passage et elles se manifestent par des modifications des phénomènes de relations entre deux milieux, par des modifications de la tension superficielle, de l'énergie électrique de surface, du coefficient d'adsorption, de la perméabilité de la membrane, des propriétés catalytiques.

On peut dire, quant au calcium, qu'il réduit en général toutes ces propriétés actives, anaboliques des cellules, qu'il atténue la vivacité des échanges et les stabilise à un taux inférieur.

Il lui revient donc une action bien spéciale et bien déterminée vis-à-vis des autres électrolytes, action qui peut entrer en conflit avec l'action d'un certain nombre des autres et explique les synergies et antagonismes d'ions. Vis-à-vis du sodium et du potassium l'action du calcium semble être le plus souvent de type contraire et on a pu les opposer ainsi et faire de l'*antagonisme des ions* la base des mécanismes physiologiques en les considérant régis par le balancement des ions contraires. Cependant le fait seul que les antagonistes varient suivant l'organe étudié, permet de supposer que les antagonismes ne sont que des antagonismes locaux par rapport à un tissu ou un organe et non des antagonismes généraux. C'est pourquoi toutes les tentatives d'assimiler par exemple le *calcium* au *parasympathique*, le *potassium*

au *sympathique* ont toujours échoué devant la divergence des antagonismes locaux : ce qui est vrai pour le cœur ne l'est plus pour l'estomac ou le capillaire et ainsi le parallélisme ne « colle » pas.

Il peut donc paraître raisonnable de n'envisager d'abord que l'action unique d'un ion, d'abord sur des éléments physiques bien définis, non pourvus de fonctions spéciales et ne possédant aucune substance susceptible d'agir d'une façon antagoniste, puis par l'adjonction d'antagonistes sur des milieux plus complexes, se rapprochant plus de l'organisme vivant, puis enfin sur celui-ci. Là encore on pourra procéder du simple au composé et arriver ainsi de la cellule par les tissus et organes à l'organisme. C'est ainsi que l'on obtiendra les résultats les plus constants et c'est ainsi que nous avons cru devoir faire, tant dans nos recherches personnelles que dans notre étude du sujet.

Quelle est *l'action du calcium?* Il provoque une *consolidation* et un *tassement* des *colloïdes*, surtout dans leur partie superficielle, repousse les autres substances qui influent sur l'activité de surface, notamment le potassium et *réduit le coefficient d'adsorption aqueuse* et de *polarisation électronique* ; ainsi il *stabilise les substances colloïdales* et très souvent *les inverse de l'état de sol à l'état de gel.*

Sur la cellule on constate des effets analogues qui prennent une expression histologique très nette, ainsi que nous avons pu le vérifier notamment sur la cellule cancéreuse. Il rétracte et arrondit les cellules, donne à leur cytoplasme un aspect compact grenu et très réfrin-

gent avec des contours extérieurs parfaitement nets et suspend les mouvements amiboïdes. Au niveau du noyau il provoque des formes de condensation multiples, dont la plus caractéristique est la pycnose. A ces phénomènes cytologiques correspond un enrichissement cytoplasmique considérable en calcium, qui peut atteindre 25 fois le taux habituel de la cellule, tandis que le fonctionnement cellulaire se trouve ralenti du simple au triple. Cette action s'exerce en particulier sur le cytoplasme et ce sont les phénomènes métaboliques ordinaires qui souffrent le plus rapidement. En particulier les phénomènes catalytiques sont réduits (Warburg), la respiration de la cellule diminue et les échanges sont ralentis. Cette *action stéréosique* du calcium est à la base des phénomènes de coagulation dans lesquels le calcium intervient pour réaliser l'état de gel (dans le sang, le lait), des phénomènes de fermentation dont certains n'ont prise que sur des colloïdes à viscosité très marquée et des phénomènes de segmentation qui inaugurent le développement embryonnaire de l'œuf d'oursin (Herbst) et sont impossibles en l'absence de calcium. Enfin la régulation des phénomènes d'excitation et de contraction dans les tissus nerveux et musculaires ne peut se faire également que grâce au calcium et son absence est cause de troubles convulsifs notables et nombreux. Tous ces effets s'expliquent par la même action consolidante, stabilisante, gélifiante du calcium, que nous dénommerons provisoirement son action stéréosique et dont un des aspects, la diminution de l'adsorption d'eau a été étudiée notamment par

Perrin et Freundlich sous le nom de *l'hydrophobie du calcium.*

Rien n'est plus intéressant que d'opposer à cette action du calcium certains effets inverses d'autres électrolytes, comme le sodium, le potassium et le magnésium. Au point de vue chimique ces sels ont chacun leur action propre qui permet cependant d'opposer le sodium et potassium au calcium et magnésium. Au point de vue de la place qui leur revient dans la série lyotrope, il existe également deux groupes bien nets, dont les effets s'opposent à tel point que l'on a pu parler d'un rapport (Na + K) : (Ca + Mg) ; en réalité le Mg n'intervient que très peu et les phénomènes hydrotropiques se résument à l'antagonisme (Na + K) : Ca. Mais le Na et K s'opposent également sous certains rapports, le K intervenant notamment dans les phénomènes de contractibilité et d'automatisme qui caractérisent les muscles, le Na dans les phénomènes d'hydratation d'une façon plus générale. Toutes ces actions sont des *actions* purement *cytoplasmiques* et *non nucléaires*, elles agissent en surface tant au niveau des tissus que des cellules isolées. En tant que lyophobe le calcium s'oppose plus spécialement au sodium qui est hydratant en tant que stéréosique plus spécialement au potassium qui est excitant et irritant. Comme l'excitation amène une augmentation des échanges et que ceux des tissus vivants se font surtout en milieu aqueux l'action du K et du Na peut souvent marcher de pair et s'opposer simultanément à l'action du Ca, mais ce fait n'est pas obligatoire, il n'est pas à la base de l'action spécifique de chacun de ces éléments.

C'est celle-ci qui permet d'expliquer la similitude d'effet en certains cas entre le calcium et le parasympathique, le potassium et le sympathique, l'action antagoniste du Na et K vis-à-vis de la pilocarpine (Robertson) et de nombreux autres faits de ce genre relatés par Dresel-Kalz et par Billigheimer. Enfin les actions électrolytiques inverses semblent agir non seulement *dans le cancer* (Beebe, Cramer, Troisier et Wolf), mais aussi *dans la croissance et sénescence* normales. Minot a supposé que la « cytomorphose » avec prédominance de la masse et de la différenciation structurale du cytoplasme vis-à-vis du noyau progressait avec l'âge de la cellule, mais Child (1912) a bien montré que c'est la diminution du métabolisme et l'augmentation des « obstacles » structuraux qui déterminait la vieillesse. « La cellule devient moins excitable, moins mobile, perd de son eau de constitution et augmente la compacité et l'imperméabilité de sa membrane ». On croirait que l'auteur décrit ainsi l'action du calcium et non pas les caractéristiques de la vieillesse. Qui peut s'empêcher de rapprocher les deux phénomènes et de conclure par analogie avec le cancer que le potassium et sodium sont un signe de jeunesse et d'activité cellulaire, tandis que le calcium est signe de vieillesse et de quiescence cellulaire ! Mais normalement ces éléments sont offerts en quantités égales à la cellule et ce sont d'autres conditions qui commandent son choix.

En effet le *calcium* se trouve *à un taux à peu près constant* de 100 à 150 mg. par litre de sang, sous la forme ionique libre, sous la forme saline non dissociée et sous

la forme non diffusible, d'ion-protéïde calcique. La quantité de calcium actif, ionique dépend de la *tension du calcium* dans le sang et celle-ci varie suivant la formule $Ca = k\frac{H}{HCO^3 \times HPO^4}$; la fixation de l'ion calcium dépend de l'acidité (PH des humeurs et tissus Freudenberg) sur laquelle semblent intervenir le système neuro-végétatif et la nourriture, et de la présence de certains albumino-mucoïdes comme l'osséine, sur laquelle semblent intervenir les glandes endocrines, en particulier la parathyroïde (Erdheim, Macallum et Voegtlin, Marine) et le thymus (Basch, Matti, Klose et Vogt). Aussi peut-on distinguer deux formes de maladies du métabolisme calcaire :

1° Une *maladie par apport insuffisant de calcium* caractérisant les états ostéoporotiques qui guérissent rapidement par l'ingestion de calcium en quantité suffisante.

2° Une *maladie par fixation insuffisante de calcium* qui peut avoir trois aspects différents :

a) insuffisance de fixation par lésion primitive du métabolisme cellulaire normal, que l'on trouve dans l'ostémalacie et le rachitisme par acidose, par insuffisance quantitative (phosphore) ou qualitative (vitamine A) de la nourriture, par conditions hygiéniques défectueuses ;

b) insuffisance de fixation par insuffisance glandulaire interne (thymus ou parathyroïde) (d'origine infectieuse traumatique ou autre), limitée à l'os : ce sont le rachitisme typique, l'ostéomalacie du climactère, l'ostéoporose, l'ostéopsathyrose ;

c) insuffisance de fixation par insuffisance glandu-

laire interne (thymus et parathyroïde) s'étendant à tous les tissus : ce sont la tétanie et la spasmophilie.

Toutes ces maladies sont caractérisées par un trouble du métabolisme calcique sous sa forme ionique, l'organisme ne pouvant se servir du calcium à l'état cristallin insoluble et le précipitant dans les tissus conjonctifs en cas d'excès par apport externe ou formation interne ou en cas de nécrobiose locale.

Pour *agir sur l'organisme* il faut donc se servir *de sels solubles* de calcium et les ingérer *à doses fortes* ainsi que l'a bien montré le Prof. Blum. On aura aussi avantage *à supprimer* autant que possible *l'apport* simultané *de sodium ou de potassium*, leur action propre s'opposant très souvent à l'action spécifique du calcium. Suivant les voies d'apport l'action du calcium n'est pas tout à fait la même.

Injecté à dose concentrée et élevée il produit un *effet presque immédiat*, en tous cas très rapide, qui porte soit sur les parois des capillaires, soit sur le système nerveux central. L'injection provoque un accès de dyspnée légère avec sensation de brûlure extrêmement intense, mais très passagère comme le montrent également quelques phénomènes de choc sympathique. On peut donc hésiter entre le mécanisme nerveux ou musculaire (vasomoteur) de l'action immédiate du calcium, qui favorise d'ailleurs l'action simultanée de l'adrénaline, tandis qu'elle inhibe son action tardive. C'est ainsi que l'on peut expliquer à la rigueur l'action du calcium sur l'urticaire, les vomissements et peut-être les diarrhées. Le fait de l'action inverse de doses faibles vis-à-vis de celle de doses fortes

cadrerait particulièrement bien avec cette action nerveuse (Richet), mais rien ne permet encore de l'affirmer.

L'action la plus nette, la plus évidente et la plus certaine du calcium est son action *sur les capillaires* qu'il contracte et rend imperméable, d'où l'augmentation de tension artérielle, la concentration du sang, l'arrêt des œdèmes et épanchements que provoque son injection intraveineuse. Cet effet du calcium est à la base de son action antiphlogistique (Chiari, Bayliss), mais il est très vraisemblable comme le pense le Prof. Blum que l'antagonisme des ions intervienne secondairement, pour corroborer par le départ de sodium l'action stabilisante, hydrophobe du calcium.

Quant à *l'action diurétique* du calcium elle est encore très difficile, sinon impossible à expliquer à l'heure actuelle. La concentration du sang, témoin d'une diminution certaine de la perméabilité endothéliale, ne cadre pas avec notre conception de l'élimination par action du seuil. Il faut admettre comme le pense le Prof. Blum que la présence du calcium modifie la combinaison aqueuse du plasma (Blum), cependant l'action du calcium sur le plasma ne peut qu'être extrêmement fugace puisqu'il disparaît immédiatement du sang. Il faut donc supposer que l'action du calcium est indirecte, agissant d'abord sur la surface sanguine, puis sur la surface tissulaire des cellules endothéliales, réduisant au minimum les échanges dans le sens sang-tissu et permettant la perméation dans le sens inverse. On peut aussi supposer que l'apport prolongé du calcium modifie l'équilibre chimique du sang, avec déplacement du CO^2 et

perturbation de la perméabilité des globules rouges (Hamburger) qui interviendraient ainsi activement dans la déshydratation calcique. Il est possible enfin que les perturbations sanguines entraînent l'action de centres régulateurs supérieurs au niveau du mésencéphale, qui sont spécialement chargés des échanges du métabolisme. Mais le phénomène de la diurèse calcique comporte néanmoins encore une certaine part d'inconnu que ni la notion de l'action spécifique du calcium, ni celle du remplacement du sodium par antagonisme ionique ne permettent d'expliquer complètement, les dosages sanguins, ne donnant pas de résultats faciles à interpréter. Espérons qu'un avenir prochain nous permettra d'élucider cette forme d'action du calcium, qui est une des plus belles conquêtes de la thérapeutique biologique.

CONCLUSIONS

Le calcium exerce sur les colloïdes une action de consolidation et de tassement qui est particulièrement nette dans les couches de surface et aboutit à une stabilisation des substances colloïdes, qui peut aller jusqu'à l'inversion de l'état du sol en état de gel.

Cette action « stéréosique » ou « tonifiante » du calcium s'oppose à l'action excitante du potassium et à l'action hydratante du sodium à tel point que dans de nombreux phénomènes, les sels de ses électrolytes semblent s'exclure ou s'inhiber dans leur action. Cet antagonisme des électrolytes n'est cependant qu'un des aspects spéciaux de l'action spécifique qui revient à chaque ion dans le métabolisme de l'organisme.

L'action cytologique du calcium correspond absolument à son action sur les solutions colloïdales non vivantes. L'étude de l'action du calcium sur la cellule cancéreuse permet d'élargir et d'approfondir les observations antérieures faites sur les œufs d'oursins ou sur les globules sanguins ; elle montre les aspects histologiques de cette action de tassement et permet par la

greffe cancéreuse d'étudier l'action retardante, inhibante du calcium sur les phénomènes de la vie cellulaire. L'étude chimique et histochimique permet de vérifier quelle est la capacité d'adsorption calcique des cellules et jusqu'à quel taux cette adsorption est encore compatible avec la vie cellulaire. L'analogie des phénomènes cellulaires permet de supposer que l'activité physiologique des cellules et leur « âge » sont réglés, en partie au moins, par la teneur du cytoplasma en calcium.

L'action tissulaire du calcium se manifeste surtout au niveau des tissus excitables et contractiles, en particulier des nerfs et des muscles. Il régularise et atténue leur capacité élastique et leur excitabilité et « tonifie » les contractions automatiques du cœur et des muscles lisses. Au niveau du tissu conjonctif l'ion calcium se fixe par le mécanisme complexe de l'ossification, la molécule calcium par le phénomène chimique de la calcification. Une interprétation physiologique de ce phénomène est donnée dans le texte et certaines modalités en sont discutées à l'aide de recherches personnelles.

L'action générale du calcium sur l'organisme peut se grouper sous trois chefs :

1° Action sur le système nerveux : dans les phénomènes de choc, dans les vomissements incoercibles des tuberculeux, dans son action sur la circulation.

2° Action sur les capillaires : dans son action antiphlogistique et son action sur les épanchements.

3° Action sur la diurèse.

Après une étude générale — à l'aide de recherches personnelles — de l'équilibre du calcium dans le sang et des facteurs de cet équilibre il est fait une analyse de l'action générale du calcium sur l'organisme qui permet de la ramener à deux éléments :

Action spécifique stéréosique du calcium sur l'endothélium vasculaire ; action antagoniste du calcium vis-à-vis du lyotropisme du sodium.

Vu, le Président,
LÉON BLUM.

Vu, le Doyen,
G. WEISS.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

AVANT-PROPOS. 7

PREMIÈRE PARTIE

Etude physicochimique et histologique des éléments de l'organisme.

Ier CHAPITRE. — *Eléments constituants.*

1. Les électrolytes 9
2. Les colloïdes 13

IIe CHAPITRE. — *La Cellule vivante* 18

Constitution 19
Fonctions de relations 23
Milieu intérieur 31

DEUXIÈME PARTIE

Action du calcium sur les milieux vivants.

Ier CHAPITRE. — *Dosage du calcium* 39

Dans le sérum 40
Dans les tissus 41

IIe CHAPITRE. — *Action biologique générale du calcium.*

1. Action des solutions physiologiques 45
2. Action du calcium 49

IIIe CHAPITRE. — *Action cytologique du calcium* 53

Sur les unicellulaires 53
Sur le globule rouge 54
Sur la cellule cancéreuse 55

IVe Chapitre. — *Action tissulaire du calcium* 65
Sur le muscle cardiaque 66
Sur le muscle strié 68
Sur le tissu nerveux 69
Sur le tissu conjonctif 70
Ossification 71
Calcification 73
Ve Chapitre. — *Action sur l'organisme* 76
Le calcium du sang et ses variations 76
Action vasculaire 80
Action antiphlogistique 80
Action diurétique 81
Action antipéristaltique 84
Action antiémétique 86
Action antianaphylactique 87
Action anticonvulsivante 88
Synthèse 91
Conclusions 102

Saint-Amand (Cher). — Imp. A. CLERC